



ESCOLA SUPERIOR DE HOTELARIA E TURISMO DO ESTORIL

Mestrado em Segurança e Qualidade Alimentar em Restauração

Dissertação apresentada à ESHTe para a obtenção do grau de Mestre em Segurança e
Qualidade Alimentar em Restauração

Avaliação de Fatores de Risco nas Saladas Prontas a Consumir em Refeitórios Públicos

Nuno Miguel Macedo Coimbra

Outubro de 2015

Orientador:

Professor Doutor Carlos Brandão

Co-Orientadora:

Professora Marta Castel-Branco

AGRADECIMENTOS

Este trabalho surgiu numa fase da minha vida em que o tempo era algo de muito precioso, e que teria de ser gerido como um bem essencial muito escasso.

Na realização deste trabalho foram vários os contributos, aos quais quero agradecer sinceramente e que, sem os quais, não teria sido possível.

Ao Professor Doutor Carlos Brandão, pela supervisão deste trabalho, pela sua disponibilidade total e transmissão de conhecimentos, de forma clara e esclarecedora, bem como, todo o estímulo dado neste processo de aprendizagem que me ajudaram a desenvolver e a melhorar este trabalho. À professora Marta Castel-Branco que permitiu valorizar os aspetos determinantes neste estudo, e pelo seu apoio disponibilizado.

Ao Presidente dos SSAP, na pessoa do Dr. Humberto Meirinhos que permitiu a realização deste trabalho, com a abordagem de um tema atual, pertinente e uma mais valia para o futuro. À Vice Presidente dos SSAP, Dr.^a Fernanda Rodrigues.

Ao Diretor de Serviços de Gestão de Refeitórios, Dr. João Romano pelo seu incondicional apoio e total disponibilidade, crucial na realização deste trabalho. À Chefe de Divisão, Dr.^a Anabela Alves.

À minha colega de sala, Madalena Rodrigues pelo seu apoio, ajuda e palavras de incentivo.

Às empresas que aceitaram colaborar neste estudo, e aos profissionais de todos os refeitórios que responderam à lista de verificação e que permitiram a realização deste trabalho.

À ESHTe por ter disponibilizado o espaço dos laboratórios e equipamento para a realização das análises.

Aos meus fabulosos pais, por todo o apoio e incentivo ao longo destes últimos anos de estudo.

À Anita, pela sua constante presença permitiu que a minha ausência fosse determinante para conseguir ultrapassar este processo emocionalmente exigente. A sua amizade e carinho são os pêndulos do centro da minha gravidade, fundamentais para manter o nosso bem-estar.

E por fim, para os primeiros, os meus lindos filhos, o Tiago e o Simão, que com os seus sorrisos me fizeram sempre acreditar.

RESUMO

“AVALIAÇÃO DE FATORES DE RISCO NAS SALADAS PRONTAS A CONSUMIR EM REFEITÓRIOS PÚBLICOS”

Considerando que mais de metade do público alvo dos refeitórios dos SSAP são aposentados, constitui um fator de risco a preparação das saladas, no que respeita a eficácia da lavagem e desinfecção de legumes (LDL), nomeadamente nas alfaces. O estudo foi realizado em 28 refeitórios públicos, localizados em Lisboa, Porto e Faro.

Na persecução do objetivo atrás referido foram avaliados os pré-requisitos associados à LDL, nas instalações e equipamentos, e foram recolhidas para avaliação microbiológica, amostras de alface em natureza, após desinfecção e em exposição. Os parâmetros microbiológicos escolhidos para avaliar a eficiência do processo de LDL foram as contagens totais a 30°C, contagem de *Enterobacteriaceae* e *Escherichia coli*. Também foram recolhidas para avaliação microbiológica de superfícies, amostras nas tábuas de corte, no momento posterior à desinfecção das alfaces e antes de qualquer utilização para avaliar o grau de recontaminação.

Dos resultados obtidos nos pré-requisitos, destacam-se os seguintes incumprimentos: lavagem das mãos, higienização das facas e tábuas de corte, controlo microbiológico das alfaces e implementação de ações corretivas e formação. Salienta-se ainda que da avaliação detalhada do processo de LDL, tendo em conta a quantidade de água e de cloro e o tempo de contato, concluiu-se que apenas um dos refeitórios cumpria o procedimento.

No que respeita aos resultados microbiológicos das contagens totais e tendo em conta o valor limite de 10^6 ufc/g, verificaram-se os seguintes valores em natureza, pós desinfecção e em exposição, de respetivamente, 81%, 31%, e 28% das análises acima dos valores limite (VL). No que respeita às *Enterobacteriaceae* e tendo em conta o valor limite de 10^4 ufc/g, verificaram-se os seguintes valores de respetivamente, 75%, 34%, e 41% das análises acima dos VL. No que respeita às contagens de *E. Coli* e tendo em conta o valor limite de 10^2 ufc/g, verificaram-se os seguintes valores de, 25% e 3%, das análises acima dos VL, sendo que em exposição verificaram-se ausência nas contagens. Os resultados da avaliação microbiológica de superfícies de contato foram de 67,9% de valores não satisfatórios. Na avaliação final dos fatores de risco nas saladas conclui-se que, os manipuladores, a formação e as superfícies têm repercussões no produto final com mais de metade de análises microbiológicas não satisfatórias das alfaces prontas a consumir.

Palavras-chave: alface, cloro, desinfecção, pré-requisitos, segurança dos alimentos.

ABSTRACT

"Evaluation of risk factors in the preparation of salads in public canteens."

Considered that more than a half of the target audience of the SSAP are retired, is a risk factor preparing salads, as regards the effectiveness of cleaning and disinfection of vegetables (CDV), especially in lettuce. The study was conducted in 28 public canteens, located in Lisbon, Porto and Faro.

In pressecution of the objective mentioned above were evaluated pre-requisites associated with CDV, premises and equipment, and were collected for microbiological evaluation, samples of lettuce in nature, after disinfection and exposure. Microbiological parameters chosen to assess the efficiency of the process CDV were total counts at 30°C, count of *Enterobacteriaceae* and *Escherichia coli*. They were also taken for microbiological evaluation surfaces, cutting boards in samples in time after the disinfection of lettuce, to assess the degree of recontamination.

The results obtained in pré-requisites, we highlight the following failures: hand washing, cleaning of knives and cutting boards, microbiological control of lettuces and implementation of corrective actions and training. It notes also that the detailed evaluation of the LDL process, taking into account the amount of water and chlorine and contact time, it was concluded that only one canteens meet the procedure.

As regards the microbiological results of total counts and taking into account the limit of 10^6 cfu/g, there were the following values in nature, after disinfection and display, respectively, 81%, 31% and 28% of up analysis of the limit values (LV). As regards *Enterobacteriaceae* and having regard to the limit value of 10^4 cfu/g, there were the following values respectively, 75%, 34% and 41% of the analyzes above VL. Regarding *E. coli* counts and taking into account a limit value of 10^2 cfu/g, there were the following values, 25% and 3% of the tests above VL, and there were exhibited no in counts. The results of the microbiological evaluation of contact surfaces were 67.9% of unsatisfactory values.

In the final assessment of the risk factors in salads it is concluded that the handlers, training and surfaces have repercussions on the final product with more than half of unsatisfactory microbiological analyzes of lettuce ready to consume.

Keywords: lettuce, chlorine, disinfection, pre-requisites, food safety.

LISTA DE ABREVIATURAS

BPH - Boas Práticas de Higiene

DGS - Direção Geral de Saúde

ESHTE – Escola Superior de Hotelaria e Turismo do Estoril

FAO - Food and Agriculture Organization

HACCP - Hazard Analysis and Critical Control Points

INSA - Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge

LDL – Lavagem e Desinfecção de Legumes

LV – Lista de Verificação

OMS - Organização Mundial de Saúde

PCC - Ponto de Controlo Crítico

PPR - Programa de Pré-requisitos

PPRO - Programa de Pré-requisitos Operacionais

UFC - Unidades Formadoras de Colónias

SSAP – Serviços Sociais da Administração Pública

VL – Valores Limite

ÍNDICE GERAL

RESUMO.....	3
ABSTRAT	4
LISTA DE ABREVIATURAS.....	5
ÍNDICE DE TABELAS	8
ÍNDICE DE FIGURAS	10
INTRODUÇÃO	13
1.1. QUESTÕES DE PARTIDA E OBJETIVOS DA INVESTIGAÇÃO	17
1.1.1. Perguntas de Partida	17
1.1.2. Objetivos da Investigação	17
1.2. ASPETOS EPIDEMIOLÓGICOS.....	18
1.3. CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA SURTOS COM VEGETAIS PRONTOS A CONSUMIR.....	22
1.3.1. Controlo Microbiológico.....	25
MATERIAIS E MÉTODOS	27
2.1. AMOSTRAGEM	28
2.1.1. Colheita e Envio.....	28
2.2. CONTROLO MICROBIOLÓGICO	28
2.2.1. Preparação da Amostra.....	28
2.2.2. Pesquisa e contagem de microrganismos totais a 30°C	29
2.2.3. Pesquisa e contagem de Enterobacteriaceae	29
2.2.4. Pesquisa e contagem de Escherichia coli.....	29
2.2.5. Preparação e Avaliação de Superfícies.....	29
2.3. MÉTODO DE ANÁLISE	30
2.4. MÉTODO DE CLASSIFICAÇÃO	30
2.5. PRÉ-REQUISITOS DO SISTEMA DE SEGURANÇA ALIMENTAR.....	31
2.5.1. Procedimento de Lavagem e Desinfecção de Legumes.....	32
RESULTADOS	35
3.1. LISTA DE VERIFICAÇÃO.....	36

3.1.1 Processo de Lavagem e Desinfecção de Legumes	48
3.2. VALORES DAS CONTAGENS.....	55
3.3. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DAS ALFACES.....	55
3.4. CLASSIFICAÇÃO DAS TÁBUAS DE CORTE EM FUNÇÃO DO PARÂMETRO MICROBIOLÓGICO ...	57
3.5. ANÁLISE DE CORRELAÇÕES.....	58
3.6. COMPARAÇÕES ENTRE GRUPOS	60
3.6.1. Comparação das contagens totais a 30°C entre os grupos Nat, Pd e Exp.	60
3.6.2. Comparação das contagens de Enterobactérias entre os grupos Nat, Pd e Exp. ..	61
3.6.3. Comparação das contagens totais a 30°C e contagens de Enterobactérias Pd em função do processo de LDL (correto/incorreto).	62
3.6.4. Comparação das contagens totais a 30°C e contagens de Enterobactérias nas alfaces em exposição (exp) em função da classificação das tábuas quanto a conservação, higiene e utilização (conforme/não conforme).....	63
3.6.5. Comparação das contagens totais a 30°C e contagens de Enterobactérias nas alfaces em exposição (exp) em função da classificação final das tábuas (NS/A/S).....	64
3.6.6. Comparação das contagens totais a 30°C e contagens de Enterobactérias nas alfaces em exposição (exp) em função da classificação do recipiente (conforme e não conforme).....	65
3.6.7. Comparação das contagens totais a 30°C e contagens de Enterobactérias nas alfaces em exposição (exp) em função da temperatura de exposição (conforme e não conforme).....	66
DISCUSSÃO.....	67
CONCLUSÃO	77
BIBLIOGRAFIA	79
ANEXO 1.....	92

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1-Agentes patogénicos associados a doenças pelo consumo de vegetais crus	24
Tabela 2-Valores Guia para Alimentos	30
Tabela 3-Valores Guia para Tábuas de Corte	30
Tabela 4-Distribuição dos refeitórios por empresa	32
Tabela 5-Produtos utilizados no processo LDL pelos fornecedores de refeições	33
Tabela 6-Etapas do procedimento da LDL dos fornecedores de refeições	33
Tabela 7-Medidas de estatística descritiva (Log (ufc/g))	55
Tabela 8-Caracterização e Avaliação da Qualidade Microbiológica das Alfaces em (%) Pd e em Exp.	56
Tabela 9-Caracterização e Avaliação da Qualidade Microbiológica das Alfaces em (%) Pd e em Exp.	56
Tabela 10-Classificação e Avaliação da Qualidade Microbiológica das TC em (%)	57
Tabela 11-Frequências absoluta da variável Fase	60
Tabela 12-Friedman rank sum test para comparação das CT em alface nas três fases LDL	60
Tabela 13-Comparações múltiplas não-paramétricas entre as fases de LDL – CT	60
Tabela 14-Friedman rank sum test para comparação de enterobactérias em alface nas três fases LDL	61
Tabela 15-Comparações múltiplas não-paramétricas entre os grupos – Enterobactérias	61
Tabela 16-Frequências absolutas – classificação do processo de lavagem e desinfecção (água, cloro e tempo)	62
Tabela 17-Frequências absolutas – classificação das tábuas quanto à conservação	63
Tabela 18-Frequências absolutas – classificação das tábuas quanto à higiene	63
Tabela 19-Frequências absolutas – classificação das tábuas quanto à utilização.....	63
Tabela 20-Wilcoxon rank sum test with continuity correction– comparação das CT em função do estado de conservação das tábuas de corte	64
Tabela 21-Wilcoxon rank sum test with continuity correction-comparação das CT em função da higienização das tábuas de corte	64
Tabela 22-Wilcoxon rank sum test with continuity correction-comparação das CT em função da utilização das tábuas de corte	64

Tabela 23-Wilcoxon rank sum test with continuity correction–comparação das contagens de enterobactérias em função do estado de conservação das tábuas de corte	64
Tabela 24-Wilcoxon rank sum test with continuity correction– comparação das contagens de enterobactérias em função da higienização das tábuas de corte.....	64
Tabela 25-Wilcoxon rank sum test with continuity correction– comparação das contagens de enterobactérias em função da utilização das tábuas de corte	64
Tabela 26-Frequências absolutas de acordo com os grupos de classificação das tábuas	65
Tabela 27-Wilcoxon rank sum test with continuity correction– comparação das CT em função da qualidade microbiológica das tábuas (2 grupos: “S+A” e “NS”).....	65
Tabela 28-Wilcoxon rank sum test with continuity correction–comparação das contagens de enterobactérias em função da qualidade microbiológica das tábuas (2 grupos: “S+A” e “NS”) 65	
Tabela 29-Nº de alfaces exp de acordo com o recipiente.....	65
Tabela 30-Wilcoxon rank sum test with continuity correction– comparação das CT em função do recipiente (correto/incorreto).....	66
Tabela 31-Wilcoxon rank sum test with continuity correction– comparação das contagens de enterobactérias em função do recipiente (correto/incorreto).....	66
Tabela 32-Nº de alfaces exp de acordo com o recipiente.....	66
Tabela 33-Wilcoxon rank sum test with continuity correction–comparação das CT em função da temperature de exposição	66
Tabela 34-Wilcoxon rank sum test with continuity correction– comparação das contagens de enterobactérias em função da temperature de exposição	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-Agentes Etiológicos identificados por surto na U.E. em 2013	20
Figura 2-Alimentos identificados por surtos na U.E. em 2013	20
Figura 3-Local identificado por surtos na U.E. em 2013	21
Figura 4-Armário de frio positivo exclusivo a legumes.....	36
Figura 5-Armário de frio positivo com g.a. de origem animal.....	36
Figura 6-Armário de frio com temperatura de 6°C	37
Figura 7-Armário de frio com temperatura incorreta de 3°C	37
Figura 8-EPF em bom estado de conservação interior e exterior.....	37
Figura 9-EPF com ferrugem no interior.....	37
Figura 10-Lavatório de comando não manual com todos os requisitos para a lavagem das mãos	38
Figura 11-Lavatório de comando não manual sem qualquer requisito para a lavagem das mãos	38
Figura 12-Zona de preparação específica para legumes	39
Figura 13-Zona de preparação mista (peixe e legumes).....	39
Figura 14-Facas em bom estado de conservação	40
Figura 15-Facas em mau estado de conservação.....	40
Figura 16-Facas arrumadas no esterelizador	40
Figura 17-Cesto de arrumação de facas desprotegido.....	40
Figura 18-Utilização da faca correta	40
Figura 19-Utilização da faca incorreta	40
Figura 20-TC em bom estado de conservação	41
Figura 21-TC em mau estado de conservação.....	41
Figura 22-TC higienizada.....	42
Figura 23-TC com higienização deficiente	42
Figura 24-Armazenagem de TC num armário ao abrigo de poeiras	42
Figura 25-Armazenagem das TC desprotegidas	42
Figura 26-Utilização correta da TC.....	42

Figura 27-Utilização incorreta da TC.....	42
Figura 28-Recipiente em inox com tampa para a alface	43
Figura 29-Escorredor em inox tapado por papel vegetal	43
Figura 30-Exposição refrigerada da alface pronta para consumo	44
Figura 31-Rótulo a acompanhar a alface.....	45
Figura 32-Alface armazenada no frio sem qualquer rótulo.....	45
Figura 33-Sistema HACCP – Identificação de PCC's para a LDL.....	46
Figura 34-Sistema HACCP – LDL não identificada como PCC's.....	46
Figura 35-Pré-requisitos do HACCP no processo de L.D.L nos refeitórios	47
Figura 36-Zona de Legumes com intrusão de trabalho de LDL	48
Figura 37-Zona de Legumes sem intrusão de trabalho para LDL.....	48
Figura 38-Triagem das alfaces com a separação das folhas velhas.....	49
Figura 39-Desinfecção seguida de corte	49
Figura 40-Corte seguido de desinfecção	49
Figura 41-Três tipologias de desinfetante utilizadas pelos fornecedores.....	50
Figura 42-Desinfetante e dosagens utilizadas no processo de LDL (%).....	51
Figura 43-Tempo utilizado no processo de LDL (%)	51
Figura 44-Desinfecção de alface.....	52
Figura 45-Desinfecção de alface conjuntamente com tomate.....	52
Figura 46-Alface submersa em contato com a solução desinfetante.....	52
Figura 47-Alface fora do contato da solução	52
Figura 48-Escorrimeto excedente de água acumulado na alface.....	53
Figura 49-Registo da lavagem e desinfeção de legumes	53
Figura 50-Procedimento de lavagem e desinfecção de legumes praticado pelas empresas de fornecimento de refeições	54
Figura 51-Dispersão contagens totais a 30°C	58
Figura 52-Dispersão <i>Enterobacteriaceae</i>	58
Figura 53-Dispersão de CT vs <i>Enterobacteriaceae</i> em Nat	59
Figura 54-Dispersão de CT vs <i>Enterobacteriaceae</i> Pd	59

Figura 55-Dispersão de CT vs <i>Enterobacteriaceae</i> em Exp	59
Figura 56-Distribuição das CT em função da fase do processo de lavagem e desinfecção (nat, pd e exp). Os pontos representam o valor médio	61
Figura 57-Distribuição da variável Log_Ent das contagens de enterobactérias em função da fase do processo de LDL. Os pontos representam o valor médio.....	62
Figura 58-Distribuição CT e contagens de enterobactérias em função da classificação de LDL	62

A Organização Mundial de Saúde (OMS), a Food and Agriculture Organization (FAO) e a Direção Geral de Saúde (DGS) recomendam o consumo de vegetais crus pelos benefícios que trazem à saúde humana. A Direção Geral de Saúde na coleção “Princípios para uma Alimentação Saudável” (2005), informa que os frutos e vegetais, representam uma parte fundamental da alimentação saudável que deve ser praticada diariamente. De um modo geral podemos dizer que estes alimentos são fornecedores insubstituíveis de minerais (potássio, zinco, cálcio, magnésio, cobre, entre outros), de algumas vitaminas (especialmente de vitamina C), de diversos compostos protectores (ex.: flavenóides) e de alguns tipos de fibras alimentares (ou complantix). Estes alimentos revelam-se aliados essenciais para a prática de hábitos alimentares saudáveis e para o cumprimento de planos alimentares destinados à redução de peso. A nova roda dos alimentos é composta por 7 grupos de alimentos de diferentes dimensões, os quais indicam a proporção com que cada um deles deve estar presente na alimentação diária, recomendando no que respeita às hortícolas o consumo diário de 23%, tanto a adultos como a seniores (DGS, 2005; Rodrigues *et al.*, 2006).

O consumo destes vegetais é determinante numa sociedade cada vez mais globalizada, onde as pessoas vêm o seu tempo cada vez mais restringido, obrigando a alterações dos hábitos alimentares, em que a opção pelo consumo de vegetais, incluindo os de 4.^a gama, dado os benefícios associados a saúde humana, tem implicações diretas no aumento do consumo destes hortícolas, continuando a originar uma reflexão importante sobre este tema (Buck *et al.*, 2003). Os produtos de 4.^a gama são constituídos por legumes crus que depois de lavados e cortados são pré-embalados, ficando prontos a serem cozinhados ou consumidos, como, por exemplo, saladas e semipreparados para sopas, proporcionando comodidade e rapidez na compra e comodidade na preparação de refeições. (Empís *et al.*, 2000).

No entanto a utilização destes vegetais crus continuam a ser potenciais veículos de transmissão de microrganismos patogénicos existindo uma preocupação ainda maior pelo consumo destes alimentos, devido ao fato de não poderem ser submetidos a tratamentos térmicos que reduzem consideravelmente os perigos biológicos, mesmo sabendo que os operadores económicos tem a responsabilidade de fornecer alimentos seguros e inócuos para a alimentação humana (De Roever, 1998; Viswanathan *et al.*, 2001; Regulamento (CE) n.º 852 de 2004).

Este tipo de vegetais é produzido e exportado em larga escala e é associado a diversos surtos com número elevado de vítimas no mundo. São produzidos e processados de modos muito diferentes e complexos, desde o simples embalamento no campo até à produção de vegetais pré-cortados. O processamento pós-colheita poderá contribuir para uma possível ampliação dos problemas ligados a agentes patogénicos. Os vegetais de folhas verdes (alfaces, espinafres, couves, chicória, ervas aromáticas com folhas (salsa, coentros, manjerição e agriões) foram considerados prioritários porque os dados disponíveis sobre contaminação

microbiológica de vegetais indicam que, de um modo geral, os vegetais de folhas verdes representam a maior preocupação no que se refere a perigos microbiológicos. (FAO, 2008; ASAE, 2012).

A diarreia causada por *E. coli* com o consumo de vegetais crus tem sido reconhecida como problema emergente, particularmente na América do Norte, Europa e Japão (Viegas, 2009). A notificação global na UE em 2007 foi de 0.6 casos por 100,000 pessoas tendo 34.2% ocorrido em crianças até 4 anos. Assim como nos anos anteriores, a distribuição de infecções seguiu um padrão sazonal, com um aumento no Verão e Outono (Viegas, 2009). De há alguns anos a esta parte os consumidores tornaram-se mais informados e atentos às questões sobre a segurança alimentar, contudo à medida que surgem novos surtos como aconteceu na Alemanha e em França em 2011 (pelo consumo de vegetais crus) cresce proporcionalmente a desconfiança a nível alimentar (Issa-Zacharia *et al.*, 2010; EFSA 2011). O surto ocorrido na Alemanha em 2011, foi dos mais dramáticos, causado por *E. coli*. Neste caso, 3785 pessoas ficaram gravemente doentes e 45 pessoas morreram (Goodburn, *et al.*, 2013).

Para reduzir a carga microbiana existente nos vegetais crus é necessário proceder à desinfecção dos vegetais através da utilização de agentes químicos e métodos físicos inócuos para os alimentos e para a saúde humana. Para ser efetivo no seu campo de ação um desinfetante deve ser estável a baixas concentrações e de rápida atuação, solúvel em água, biodegradável, fácil de enxaguar, não corrosivo, inócuo e vantajoso economicamente (CDC, 2008). A oferta de produtos desinfetantes para frutas e legumes crus tanto inclui produtos químicos e físicos. Os desinfetantes químicos têm uma vasta oferta no mercado, e a sua ação e eficiência depende de inúmeros fatores, como, a concentração utilizada, o tempo de exposição, a temperatura, o pH, do vegetal a desinfetar e da sensibilidade de cada microrganismo (Issa-Zacharia *et al.*, 2010). Assim, destacam-se o cloro, dióxido de cloro, peróxido de hidrogénio, ozono, ácidos orgânicos e os recentemente estudados extratos de plantas e culturas protetoras (Kim *et al.*, 2011). Os processos físicos, nomeadamente a água eletrolisada e a irradiação, têm uma eficácia nos vegetais, muito superior à maioria dos desinfetantes químicos no entanto por serem tecnologias dispendiosas ainda se encontram em estudo (Issa-Zacharia *et al.*, 2010; Tirpanalan *et al.*, 2011).

Assim sendo a lavagem e desinfecção de legumes (LDL) com recurso a agentes químicos é o processo comumente utilizado para reduzir a carga microbiana para níveis aceitáveis, destacando-se o cloro. Na restauração coletiva é o desinfetante mais utilizado pelas empresas no setor alimentar devido à sua eficácia, fácil utilização e baixo custo (Parish *et al.*, 2003; Ölmez *et al.*, 2009). É de salientar que durante o processo de LDL, as alfaces depois de lavadas e desinfetadas passam por um processo de corte nas tábuas sendo um fator importante a ter em conta, por ser uma potencial fonte de contaminação cruzada (Walker *et al.*, 1997).

O processo de LDL é parte importante na redução da microbiota destes produtos, contudo existem fatores envolventes como as práticas ao longo da cadeia produtiva das alfaces (pré-colheita, colheita, após colheita) que influenciam as características microbiológicas das mesmas. As instalações de cada refeitório com zonas específicas para a LDL, os equipamentos hoteleiros utilizados, como lavatórios de comando não manual, armários de frio e expositores de saladas, os utensílios como facas, tábuas de corte, recipientes pós desinfecção até aos manipuladores são fatores a ter em conta na avaliação do processo. Considera-se de extrema importância a avaliação dos fatores de risco na preparação de saladas em refeitórios públicos, e as Boas Práticas vigentes ao longo das diferentes etapas durante o processo de LDL, pela sua relação com a qualidade microbiológica dos produtos. Trata-se de uma relação de dependência em que as fragilidades verificadas a jusante e a montante de um determinado elo se repercutem no produto final apresentado aos consumidores. (SCF 2002; Johnston *et al.*, 2005).

Em 2013 os Serviços Sociais da Administração Pública (SSAP) serviram 1.173.393 refeições entre refeitórios e outros locais com os quais têm acordos como centros de cultura e desporto (CCD), restaurantes e CCDR'S. Os consumidores que frequentaram os 28 refeitórios públicos, foram 244.683 activos e 283.919 utentes aposentados. Os SSAP realizam dois inquéritos de satisfação, semestrais, por ano, aos utentes nos refeitórios, dando origem a um tratamento de dados, finalizado em dois relatórios semestrais de satisfação dos beneficiários com os refeitórios. Nestes dois dias de inquéritos de satisfação aos utentes verificámos como utentes seniores 50,35% nos 28 refeitórios, com idades superiores a 60 anos. Estes inquéritos servem para obter dados de satisfação dos utentes, como informações do estado atual do fornecimento de refeições, destacando-se o fato dos utentes sugerirem mais variedade de vegetais crus para consumo, devido à crescente importância dada à integração de vegetais numa dieta saudável (SSAP, 2013).

Os vegetais são fonte de contaminação por agentes patogénicos para os seres humanos, sendo que a probabilidade de ocorrência de uma intoxicação alimentar depende da quantidade de bactérias presentes, da dose mínima infecciosa e da suscetibilidade individual. O aumento dos utilizadores séniores nos refeitórios e o envelhecimento da população, é um processo natural e dinâmico, acompanhado por um conjunto de alterações que aumentam o risco de défices nutricionais nas pessoas idosas. Um estado nutricional inadequado contribui de forma significativa para o aumento da incapacidade física, da morbilidade e da mortalidade condicionando a qualidade de vida. Assim, estas pessoas, são consideradas como pertencentes a grupos de risco (Ferry *et al.*, 2002; Bento *et al.*, 2009).

Tendo em conta o descrito, este trabalho pretende o cumprimento do procedimentos de lavagem e desinfecção das alfaces, designadamente, na eficácia da utilização do cloro, sendo que a sua incorreta utilização, bem como as condições existentes das instalações de cada refeitório

podem ter influência diretamente no consumidor final e concomitantemente se pretende avaliar globalmente a qualidade sanitária destes produtos.

1.1. Questões de Partida e Objetivos da Investigação

1.1.1. Perguntas de Partida

As tarefas do autor inserem-se no controlo da qualidade e segurança alimentar nestes refeitórios públicos onde foram detetadas diversas situações anómalas, nos resultados das análise microbiológicas dos alimentos, apresentando em número considerável de não satisfatórios.

A situação atrás referida, e dado as características da amostragem, nos parece ficam a dever-se às alfaces. Verificou-se em diversas situações que a carga microbiana dos alimentos, considerados não satisfatórios, em que, ao que tudo indica se ficam a dever a refeições prontas a consumir, nomeadamente as alfaces.

Atendendo a:

1. Aumento do consumo de vegetais crus porque são saudáveis e de fácil preparação.
2. Os vegetais crus não são submetidos a qualquer tratamento térmico antes do seu consumo tornando-se crucial a sua correta lavagem e desinfecção.
3. Cerca de 54% dos utilizadores dos refeitórios são aposentados enquadrados no público-alvo considerado de risco.

A análise principal incidiu na avaliação de fatores de risco na preparação, lavagem e desinfecção das alfaces, bem como na exposição da mesma ao consumidor final nos refeitórios públicos.

Questões de partida:

1. Será que os processos de LDL, nomeadamente, das alfaces são eficazes?
2. Será que as alfaces prontas a ser consumidas em cru, são consideradas seguras do ponto de vista microbiológico?
3. As instalações, utensílios e manipuladores têm influência no produto final?

1.1.2. Objetivos da Investigação

Objetivo Geral

- Avaliação de fatores de risco nas operações de lavagem e desinfecção de legumes.

Objetivo Específicos

- Avaliação dos pré-requisitos associados ao processo de LDL crus.
- Avaliação de fatores de risco associados ao processo de LDL crus, nomeadamente água, cloro e tempo.
- Avaliação microbiológica da eficácia das operações de LDL crus.
- Avaliação microbiológica de superfícies de contato designadamente, as tábuas de corte para aferir saber qual a relação de contaminação pós desinfecção.
- Elaboração de recomendações com vista a implementar melhorias para o processo de LDL.

Os objetivos gerais e específicos delineados permitiram empreender todo o trabalho de investigação de forma objetiva e organizada, repercutindo-se na seleção da respetiva metodologia.

1.2. Aspetos Epidemiológicos

Em 2013 a produção da alface em Portugal chegou às 57.659 toneladas. Ficou em 4 lugar na produção das culturas hortícolas atrás do tomate fresco (97/t), couve-repolho (89/t) e da cenoura com (77/t). Esta cultura hortícola é efetuada tanto ao ar livre como em estufas, durante todo o ano. As alfaces frisadas verdes são a tipologia predominante em todo país (85% da produção) seguidas das alfaces lisas e das alfaces de folha de carvalho, verificando-se gradualmente o aumento anual do seu consumo tanto na europa como no mundo. De acordo com os dados da FAO, a produção mundial de alface em 2004 estimava-se em 22 milhões de toneladas, distribuídas por uma superfície de 1 milhão de hectares. A China é o maior produtor do mundo, com um volume anual de cerca de 10,5 milhões de toneladas, o que representa aproximadamente 48% da produção mundial. Seguem-se-lhe os Estados Unidos da América (EUA) com 23%. A Europa é responsável por 15% da produção mundial, estando praticamente confinada aos 25 países membros da União Europeia (UE). A Espanha e a Itália são os principais produtores de alface da Europa. As produtividades médias de alface, nos vários Continentes são muito diferentes, rondando as 23 t/ha na Europa, 18 t/ha na Ásia e 36 t/ha na América do Norte e Central (GPP, 2007; INE, 2013).

O consumo destas hortícolas, pode favorecer a ocorrência de doenças provocadas por microrganismos contaminantes deste tipo de alimentos. O Center for Disease Control Prevention (CDCP) estima que nos EUA as doenças alimentares causam aproximadamente 76 milhões de doentes, 325.000 internamentos e 5.000 mortes a cada ano (CDC, 2012; Yarrow *et al.*, 2009). No entanto calcula-se que apenas uma pequena percentagem dos surtos, nomeadamente 10%, sejam notificados (Santos *et al.*, 2007). Na Europa foram notificadas, em

2013, um total de 5.196 toxinfecções alimentares (TIA) tendo sido afetadas 41.962 pessoas, resultando em 5.946 hospitalizações e 11 mortes ou seja 14,2 %. França e Espanha notificaram 76,92% das TIA verificadas na UE. Houve uma grande variação entre os estados membros na notificação do número e proporção de TIA verificadas, o que poderá reflectir as diferenças na sensibilidade e eficiência nos sistemas nacionais de investigação e notificação de TIA locais (EFSA, 2013).

A importância dada às zoonoses é determinada por diversos factores, não sendo a incidência o único factor relevante. A severidade da doença bem como o número de casos mortais registados são, igualmente, factores relevantes que condicionam a importância que se dá a determinada doença. Como exemplos desta situação consideram-se casos como os da *E. coli* enterohemorrágica (ex. *E. coli* O157:H7) e da Listeriose, que são importantes doenças de origem alimentar que, apesar de apresentarem uma incidência relativamente baixa, têm emergido ao longo das últimas décadas, causando doença grave, por vezes fatal principalmente em grupos de risco. (EFSA, 2011; OMS, 2007). As doenças entéricas existentes no mundo são as grandes responsáveis pela maioria das mortes designadamente a *Salmonella typhi* (52 000 óbitos), *E. coli* enteropatogénica (37 000) e norovírus (35 000) (WHO, 2010).

De acordo com o relatório da UE de 2013 sobre zoonoses, agentes zoonóticos e surtos de origem alimentar, com fortes e fracas evidências, o agente causal é conhecido em 71,1% do número total de surtos notificados, conforme demonstra a figura 1. A *Salmonella* permaneceu o agente mais comum detectado e causador de surtos de origem alimentar (reportados 22,4%), seguido pelos vírus, toxinas bacterianas e *Campylobacter*, a que correspondeu, 18,1%, 16% e 7,9% dos surtos, respectivamente. Considerando-se os surtos notificados para cada agente causador, a maior proporção de surtos foi relatado por parasitas (58,5%), seguido pelo grupo de outros agentes causais (57,6%) e *Salmonella* (27,0%). Existiu um único surto causado por *E. coli* patogénica (não-VTEC). Microrganismos como a *Salmonella*, *Campylobacter*, e *Escherichia coli* enterohemorrágica estão entre os agentes patogénicos alimentares mais comuns que afetam milhões de pessoas anualmente, às vezes com resultados graves e fatais.

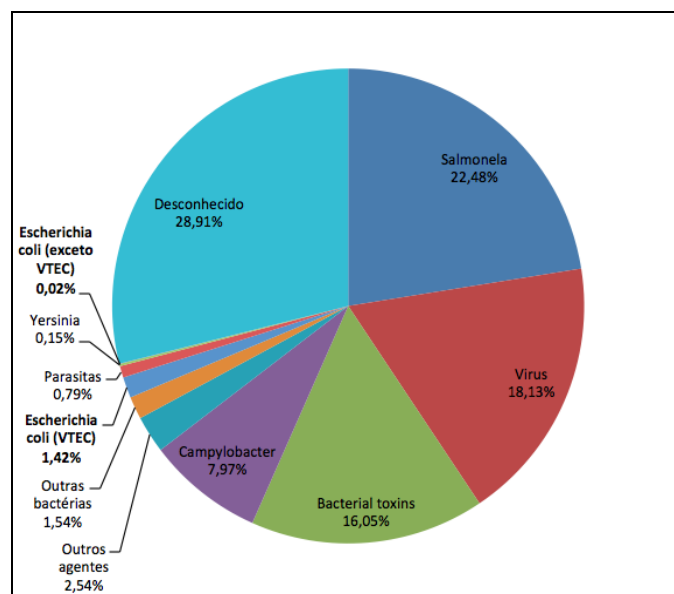


Figura 1-Agentes Etiológicos identificados por surto na U.E. em 2013

No mesmo relatório os alimentos identificados como fonte de contaminação na totalidade dos surtos (n=839) com fortes evidências, constam na figura 2. Os alimentos mais comuns implicados em surtos foram os ovos e ovoprodutos (18,5%) seguido por alimentos mistos (10,7%) e peixes e seus derivados com 8,5%. Os surtos associados a crustáceos, moluscos e produtos derivados foi de 7,3%. Da percentagem total dos surtos 2,1% tiveram origem em Portugal. Os vegetais, sumos e derivados ocupam o 9º lugar com 4,4% do total dos surtos identificados.

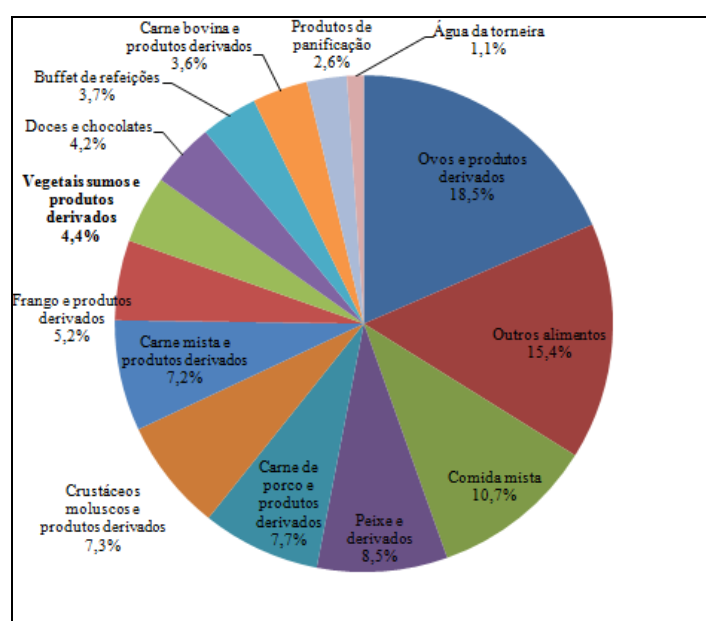


Figura 2-Alimentos identificados por surtos na U.E. em 2013

No que respeita aos locais de ocorrência dos surtos o mesmo relatório, refere que, o mais comum são as casas/cozinhas domésticas (38,5%), seguido por restaurantes, cafés, pub, bares, hotéis com (22,2%), e por escolas, jardins de infância (8,3%). Os refeitórios/cantinas ocupam o 5º lugar com 5% dos surtos (figura 3). Em 2013, não houve grandes mudanças nas configurações da distribuição dos surtos em comparação com 2012.

Para testar a fraca contribuição, Portugal apenas representa 2,1% da totalidade dos surtos identificados (n=839), com fortes evidências, demonstrando que este é um fator relacionado com as deficientes notificações na recolha de informação Epidemiológica. (EFSA, 2013).

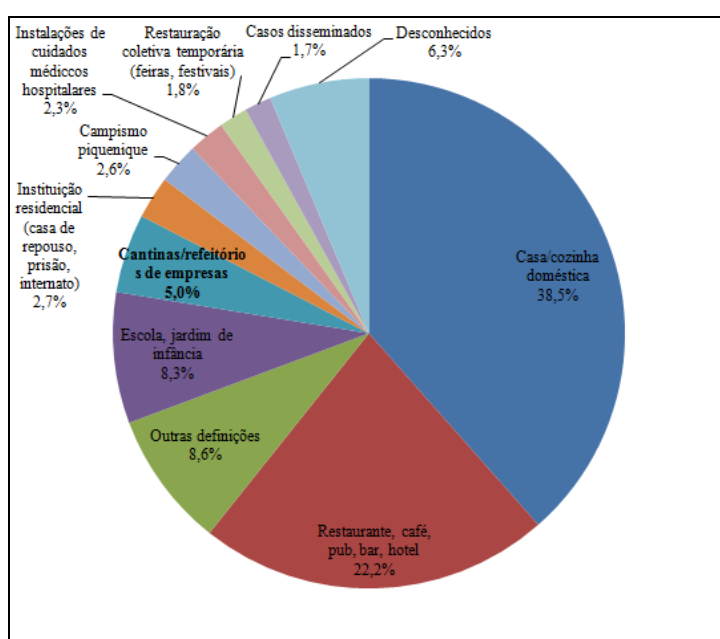


Figura 3-Local identificado por surtos na U.E. em 2013

Entre 1997 e 1999 os locais em Lisboa de maior ocorrência de número de surtos de toxinfecções alimentares registadas foram os refeitórios por serem locais onde se produz um elevado número de refeições de composição variada, aumentado precisamente os seus riscos (Novais *et al.*, 2004). No entanto segundo os últimos dados reportados pelo Departamento de Alimentação e Nutrição do INSA, IP entre 2008-2011, foram enviados ao INSA, IP, géneros alimentícios, para estudo microbiológico, correspondentes a 81 surtos. Estes surtos originaram em 183 hospitalizações e uma morte. Em 37 surtos foram identificados os respetivos agentes etiológicos nos alimentos. Os 14 surtos em que foi detetada enterotoxina estafilocócica e/ou estafilococos coagulase positiva foram os mais frequentes, tendo estes envolvido o maior número de casos. Os surtos reportados com o número de hospitalizações mais elevado correspondem àqueles em que estiveram envolvidos *Bacillus* spp.. O agente microbiológico *E.*

coli (VTEC) originou um surto com 5 casos e nenhuma hospitalização. Os fatores contributivos que se identificaram como causa da ocorrência dos surtos foram as falhas no controlo do binómio tempo/temperatura na distribuição e armazenamento, erros de manipulação promovendo contaminações cruzadas, preparação com tratamentos térmicos inadequados e utilização de ingredientes contaminados em alimentos que não sofreram processamento antes de serem consumidos. A identificação do local onde o alimento implicado foi preparado e ocorreu em 33 surtos foram as casas particulares, os locais mais frequentes, as cantinas/refeitórios ocupam o 5º lugar com 2 surtos. (Correia *et al*, 2013).

1.3. Caracterização Epidemiológica dos Surtos com Vegetais prontos a consumir

Os surtos relacionados com o consumo de vegetais crus têm vindo a aumentar nos últimos anos (Hedberg *et al.*, 1993; Johnston *et al.*, 2005; Issa-Zacharia *et al.*, 2010). A origem mais comum destes surtos é a bacteriana contudo têm-se verificado casos de contaminações por parasitas e vírus. Num estudo efetuado nos EUA entre 1973-1997, os parasitas representaram 16% de todos os surtos associados (Sivapalasingam *et al.*, 2004). Entre eles, *Cyclospora* foi o parasita mais relatado. Durante os anos de 1990 foram encontrados múltiplos focos de ciclosporiase associados com as framboesas (Herwaldt *et al.*, 1996; Koumans *et al.*, 1995; Herwaldt *et al.*, 1997; Herwaldt, 2000; Ho *et al.*, 2002). A maioria dos surtos americanos estavam ligados a framboesas importadas da Guatemala.

No mesmo estudo constatou-se que os vírus associados a este tipo de surtos eram responsáveis por apenas 20% dos focos, a maioria devido a hepatite A (Sivapalasingam *et al.*, 2004). Desde então, têm se verificado um aumento de surtos de norovírus (Widdowson *et al.*, 2005). A principal origem deste tipo de surtos, tanto de norovírus como de hepatite A são devido à contaminação de alimentos pelas mãos de manipuladores infectados. Na Europa a existência de múltiplos surtos de norovírus como gastroenterite estão associados a framboesas (Cotterelle *et al.*, 2005; Falkenhorst *et al.*, 2005; Korsager *et al.*, 2005; Hjertqvist *et al.*, 2006). Da mesma forma, os surtos de hepatite A foram relatados e associados a framboesas, morangos, cebola e alface (Reid *et al.*, 1987; Rosenblum *et al.*, 1990; Hutin *et al.*, 1999; Dentinger *et al.*, 2001). As toxinfecções alimentares bacterianas continuam a ser um dos principais responsáveis das doenças de origem alimentar. No mesmo estudo nos EUA entre 1973-1997, as bactérias foram responsáveis por 60% dos surtos. A *Salmonella* foi o agente patogénico mais reportado, sendo responsável por quase metade dos surtos referentes a bactérias (Sivapalasingam *et al.*, 2004).

Os brotos de rabanete, brotos alfalfa, rebentos de feijão, couve bruxelas, espinafres, agrião e as sementes germinadas contaminadas têm sido associados a múltiplos focos de infecção de *E. coli* O157 e *Salmonella* (Mahon *et al.*, 1997; Michino *et al.*, 1999; Taormina *et al.*, 1999; Van *et al.*, 1999; Breuer *et al.*, 2001; Honish *et al.*, 2001; Mohle-Boetani *et al.*, 2001; 2009; Proctor *et al.*, 2001; Stratton *et al.*, 2001; CDCP, 2002, 2006; Van Duynhoven *et al.*, 2002; Winthrop *et al.*, 2003; Ferguson *et al.*, 2005; Emberland *et al.*, 2007; Erickson *et al.*, 2007; Werner *et al.*, 2007). Os sumos, de maçã e de laranja pasteurizados têm sido responsáveis também por vários focos de infecção de *E. coli* O157 e *Salmonella* (Besser *et al.*, 1993; Cook *et al.*, 1998; Vojdani *et al.*, 2008).

Os vegetais de folhas verdes têm sido os maiores responsáveis associados a surtos alimentares nomeadamente a infecções de *E. coli* O157 (Ackers *et al.*, 1998; Hilborn *et al.*, 1999; Friesema *et al.*, 2008; Grant *et al.*, 2008; Soderstrom *et al.*, 2008; Wendel *et al.*, 2009).

Em 1999 um estudo feito em Tóquio que incidiu sobre comida de rua pronta a comer, constatou-se que os vegetais crus eram considerados os alimentos mais “colonizados” com aeróbios totais e Enterobactérias (Kaneko, *et al.*, 1999).

Em 2006 verificaram-se 2 surtos envolvendo *E. coli* O157:H7 em vegetais, afetando centenas de pessoas, um envolvendo espinafre pré-embalado que afectou 26 estados nos EUA resultando em 183 infeções confirmadas e três mortes e outro envolvendo alface de um estabelecimento de “fast-food” que afectou 5 estados (CDC, 2006; Grant *et al.*, 2008; Wendel *et al.*, 2009; Viegas, 2009).

Em 2008 foi efetuado um estudo na província de Qazvinno no Irão para verificar a quantidade de vegetais crus, como a alface, contaminados por parasitas. Das 218 amostras de vegetais sem qualquer tratamento, 82 (37,6%) estavam contaminados por parasitas e 13 (6 %) foram contaminados com protozoários. Estes resultados reforçam a importância de lavar e desinfetar vegetais crus corretamente antes de serem consumidos (Shahnazi *et al.*, 2010).

Em janeiro de 2010 na Dinamarca, ocorreram pelo menos 11 surtos de gastroenterite ligados com um total de 260 casos. As investigações mostraram que os surtos foram causados por norovírus de vários genótipos e por *E. coli* enterotoxigênica. O veículo de transmissão foi a alface do tipo lollo bionda cultivada em França (Ethelberg *et al.*, 2010).

O último surto com grande impacto na opinião pública ocorreu entre o início de maio e o final de Julho de 2011, onde foram notificados, na Alemanha, centenas de casos provocados por infecção de *E. coli* O104:H4 sendo como fonte provável do surto a ingestão de legumes e vegetais crus contaminados por aquele agente. Este surto afetou principalmente os países da Alemanha e França contudo em toda a UE mais de 3.100 casos de diarreia com sangue e mais de 850 de síndrome hemolítica urêmica (SHU), uma condição grave que pode levar à insuficiência renal, foram relatados durante os dois focos. Confirmaram-se 53 mortes. O surto na Alemanha foi o maior surto de bactérias de origem alimentar do país nos últimos 60 anos

(EFSA 2011). Os alimentos não seguros apresentam grandes riscos económicos, especialmente num mundo globalizado. Em 2011 o surto de *E. coli* na Alemanha terá causado US \$ 1,3 bilhões em perdas para os agricultores e indústrias e US \$ 236 milhões em pagamentos de ajuda de emergência a 22 países da UE (WHO, 2014).

Em quatro estados dos EUA, foram notificados num total de 33 pessoas infetadas com o surto envolvendo *E. coli* O157: H7. As pessoas que foram hospitalizadas rondaram os 32%. Duas pessoas doentes desenvolveram SHU, e nenhuma morte foi relatada. Os inquéritos de rastreios epidemiológicos efectuados no local, indicaram que o consumo de duas saladas pronto-a-comer, salada picada com frango grelhado e salada com pimentão e galinha, vendido numa mercearia, foi a provável fonte deste surto de *E. coli* O157: H7 (CDC, 2012). O maior surto de *E. coli* O157 até à data, foi em 1996, na cidade de Osaka, Japão, atribuído ao consumo de brotos de rabanete branco (Michino *et al.*, 1999), tal como apresentado na Tabela 1.

Tabela 1-Agentes patogénicos associados a doenças pelo consumo de vegetais crus

Agente	Alimento implicado	Referência
<i>Campylobacter jejuni</i>	Alface	WHO (1998)
<i>Campylobacter jejuni</i>	Alface	WHO (1998)
<i>Campylobacter jejuni</i>	Alface	WHO (1998)
<i>Campylobacter spp.</i>	Alface	EFSA (2011)
<i>Cyclospora cayatenesis</i>	Alface	WHO (1998)
<i>E. coli</i> O157:H7	Alface iceberg	WHO (1998)
<i>E. coli</i> O157:H7	Alface romaine	WHO (1998)
<i>E. coli</i> O157:H7	Alface iceberg	WHO (1998)
<i>E. coli</i> O157:H7	Alface	Buck et al., 2003; Little et al., 1999; Lin et al., 1996.
<i>E. coli</i> O157:H7 (1)	Rabanete	Issa-Zacharia et al., 2010; Buck, et al., 2003; SCF (2002)
<i>E. coli</i> e Norovírus	Alface Lollo Bionda	Ethelberg et al., 2012.
<i>E. coli</i> O157:H7	Alface romaine	CDC (2010)
<i>E. coli</i> O157:H7	Salada mista	EFSA (2011)
<i>E. coli</i> O157:H7	Alface romaine	CDC (2012)
<i>E. coli</i> O157:H7	Salada	ECDC (2013)
<i>E. coli</i> O157:H7	Salada	ECDC (2013)
<i>E. coli</i> O104:H4 (2)	Alface	ECDC (2012)
<i>Giardia lamblia</i>	Alface	WHO (1998)
Vírus Hepatite A	Alface iceberg	Rosenblum et al. (1990)
<i>Shigella sonnei</i>	Alface iceberg	WHO (1998)

(1) 11000 pessoas afetadas, 6000 casos confirmados por cultura, morreram três crianças.

(2) 53 mortos

(Adaptado de WHO, 1998; SCF, 2002; Buck et al., 2003; CDC, 2010; Issa-Zacharia et al., 2010; Ethelberg et al., 2012; EFSA, 2011; CDC, 2012).

1.3.1. Controlo Microbiológico

Para estar assegurada a qualidade microbiológica dos alimentos é importante garantir as boas práticas em todo ciclo desde a produção, passando pela distribuição, armazenagem e processamento até ao seu consumo, nunca descorando, em cada etapa, situações mais sensíveis que podem influenciar a qualidade final do alimento. Nas empresas de restauração os vegetais são produtos que pela sua especificidade não sofrem qualquer tratamento térmico a não ser um tratamento químico, através da utilização de cloro, contudo as operações tecnológicas subsequentes podem aumentar a carga microbiana e também aumentar a possibilidade de contaminação destes alimentos.

Os manipuladores, as superfícies e as instalações, devem ser mantidos limpos e higienizados com base nos planos de higienização de cada empresa de restauração podendo utilizar para isso a contagem e deteção de microrganismos indicadores (Moore *et al.*, 2002).

Os microrganismos indicadores são aqueles que, quando presentes num alimento, nos dão sobretudo indicações sobre quais os possíveis microrganismos patogénicos existentes, qual a possível fonte de contaminação, de origem fecal, bem como nos indicam se as condições sanitárias foram inadequadas durante o processamento, armazenamento ou distribuição (Forsythe, 2002).

Desta forma as bactérias podem ser usadas como medida de eficácia das operações de LDL e do controlo de qualidade higiénico e sanitário. Os indicadores que permitem avaliar a eficácia da LDL, contaminações e/ou recontaminações são as contagens totais a 30°C (CT) para a qualidade do produto, as Enterobactérias (Ent) para verificar o estado higiénico do produto e a *E. coli* para verificar sobre as condições de higiene adequadas. A contagem dos microrganismos aeróbios mesófilos inclui os microrganismos cujo intervalo de temperatura ótima de crescimento se situa entre 20-45°C (Wanda *et al.*, 2010). Os mesófilos podem também ser encontrados no ar dos ambientes de processamento, podendo contaminar os alimentos. A contaminação destes locais depende verdadeiramente do número de manipuladores, sistema de ventilação e circulação do ar, sistema de escoamento, águas de lavagem e desinfecção dos locais, e acessos ao exterior. Torna-se por isso fundamental garantir um ambiente de armazenamento limpo para os alimentos prevenindo doenças transmitidas por alimentos e outros riscos para a saúde. (Al-Dagal *et al.*, 1992; Salustiano *et al.*, 2003).

A contagem dos microrganismos aeróbios mesófilos é um dos melhores indicadores da qualidade microbiológica dos alimentos, permitindo-nos fazer uma estimativa da carga microbiana total nos alimentos, dando-nos igualmente indicações tanto das condições higiénicas da sua manipulação e armazenamento (Bofill *et al.*, 2006). No entanto as quantidades baixas destes microrganismos não são sinal de alimentos seguros, indicam-nos um alimento com baixa

de carga microbiana. Por outro lado, os níveis elevados de microorganismos patogénicos também não indicam a existência de bactérias patogénicas, indicam-nos sim, a existência de condições propícias para as mesmas se multiplicarem nos alimentos (Anderson *et al.*, 2000; Fresco, 2004; Bofill *et al.*, 2006).

As Enterobactérias são bacilos Gram negativos. Teoricamente, estas bactérias deveriam ser de origem intestinal, contudo muitas delas apresentam uma ligação fecal baixa, tendo uma distribuição ubiqüitária, e encontrando-se em solos, plantas e água (Souza, 2000). A contagem de enterobactérias acaba por ter mais importância como indicador no processo tecnológico, ainda que a família *Enterobacteriaceae* englobe muitos géneros de origem não fecal (Adams *et al.*, 2000; Anderson *et al.*, 2000; Fresco, 2004).

Estas bactérias podem ser usadas para avaliar a higienização, porque são rapidamente inativadas pelos desinfetantes habituais contudo com uma deficiente limpeza são capazes de colonizar diversos locais nas cozinhas industriais. As contagens elevadas de *Enterobacteriaceae* nos alimentos indicam-nos preparação e confecção pouco higiénica, contaminação numa fase posterior à elaboração ou ambas as coisas (Anderson *et al.*, 2000).

A presença de coliformes totais nos alimentos processados é um indicador útil de contaminação pós-higienização ou pós-tratamento térmico, indicando falhas de higiene ao longo do processamento e armazenamento do produto ou deficiência do tratamento térmico (Cardoso *et al.*, 1999; Marchi, 2006). A infecção humana pode ser adquirida através do consumo de alimentos e água contaminados ou pela transmissão direta de pessoa a pessoa ou de animais infectados ao homem. Os alimentos de origem bovina e ovina são frequentemente designados como origem de infecções humanas. Outra importante fonte de infecção inclui vegetais contaminados fecalmente e água para consumo ou rega. O insuficiente tratamento térmico e químico, nos sumos de fruta e leite não pasteurizados, nas alfaces, carne de caça, queijo e salame curados têm sido implicados em muitos surtos (Viegas, 2009).

Dentro das Enterobactérias a *Escherichia coli* é uma bactéria comensal do trato intestinal dos humanos e mamíferos e a sua presença nos alimentos, água e ambiente indica contaminação fecal (Souza, 2000).

Materiais e Métodos

2.1. Amostragem

O estudo foi realizado nos 28 refeitórios sob a gestão dos SSAP, inseridos em diversos organismos da função pública, sendo que 26 refeitórios estão localizados na área da grande Lisboa, um refeitório no Porto e outro refeitório em Faro. Foi efetuada uma visita a cada um dos refeitórios, com início às 8:00h da manhã, durante os meses de Junho a Setembro de 2013.

2.1.1. Colheita e Envio

Em todos os refeitórios, diariamente, e num único procedimento são lavadas e desinfetadas as alfaces. Por isso em cada visita, foram colhidas e enviadas para laboratório para posterior análise microbiológica amostras referentes a três fases de preparação da(s) alface(s) nomeadamente, em natureza (nat), Pós desinfeção (pd) e em exposição (exp) pronta a ser consumida, num total de 84 amostras de alfaces.

As alfaces em natureza estavam armazenadas em sacos de plástico, em armários de frio positivo (refrigerados). Durante o período mencionado foram efetuadas visitas aos refeitórios pelas 8h da manhã, às segundas, terças e quartas-feiras.

Foram recolhidas em saco de amostra (Whirl-Pak®) três amostras da(s) alface(s) durante todo o processo de lavagem e desinfeção das mesmas, (1 amostra em nat, 1 amostra em pd e 1 amostra em exp). Foram ainda efetuadas duas análises de superfície através placas de contato (tábuas de corte). Por fim, em cada um dos refeitórios, procedeu-se à verificação de pré-requisitos e respetivo preenchimento de L.V. (Anexo 1).

Em cada um dos refeitórios, a primeira unidade amostral das alfaces foi retirada dos armários de refrigeração ou câmaras de refrigeração e sem lavagem prévia, sendo retirada uma mistura aleatória de folhas da parte externa e interna das alfaces. A segunda unidade amostral foi retirada depois de concluído o processo de lavagem e desinfeção, de forma também aleatória, incluindo folhas inteiras da alface ou a alface já laminada (dependendo do procedimento utilizado por cada empresa). A última unidade amostral foi retirada de forma aleatória de expositores refrigerados de saladas ou em exposição à temperatura ambiente, sendo retirada uma mistura de folhas, previamente laminadas.

As amostras foram transportadas de forma asséptica em contentor isotérmico e analisadas no dia da colheita, no Laboratório de Microbiologia Alimentar da Escola Superior de Hotelaria e Turismo do Estoril.

2.2. Controlo Microbiológico

2.2.1. Preparação da Amostra

Os produtos foram analisados recorrendo a técnicas e metodologias clássicas de microbiologia alimentar. De cada amostra (folhas de alface) foram efetuadas tomas de 10 grs.

numa balança centesimal (Kern® FOK 11K1M), que foram suspensos em 90 ml de água peptonada tamponada APT (BK131) num saco de homogeneizador (BagLight 400), homogeneizados no equipamento Stomacher® 400 circulator (Seward) durante 60 segundos sendo obtida a solução mãe. De seguida foram efectuadas diluições decimais em APT. Por cada amostra foram analisados os seguintes parâmetros: contagens totais a 30°C, contagem de *Enterobacteriaceae* e contagem de *E.coli*.

2.2.2. Pesquisa e contagem de microrganismos totais a 30°C

O meio de cultura utilizado nas contagens totais foi o meio Plate Count Agar (PCA) (BK144A). A sementeira foi realizada por incorporação de 1 ml de inóculo em meio de PCA para cada uma das diluições, posteriormente incubada a 30°C, por 72 horas, em estufa (Memmert IPP 500) com observação diária. As colónias apresentam cor branca leitosa e amarela (Biokar Diagnostics, 2010).

2.2.3. Pesquisa e contagem de *Enterobacteriaceae*

O meio de cultura utilizado para identificação de Enterobactérias foi o Violet Red Bile Glucose Agar (BK011). A sementeira foi realizada por incorporação de 1 ml de inóculo em meio de VRBG para cada uma das diluições, posteriormente incubada a 37°C por 24 horas, em estufa (Memmert IPP 500). As colónias de morfologia típica são de cor carmim, com diâmetro de 0,5 mm ou superior (Biokar Diagnostics, 2010).

2.2.4. Pesquisa e contagem de *Escherichia coli*

A identificação de *E. coli* foi feita através do meio Tryptone Byle X-Glucuronide Agar (BK146). A sementeira foi realizada por incorporação de 1 ml de inóculo em meio de TBX para cada uma das diluições, posteriormente incubada a 44°C, em estufa (Memmert IPP 500). As colónias de morfologia típica de *E. coli*. identificam-se pela sua cor azul, devido à ação da β -D-glucuronidase (Biokar Diagnostics, 2010).

2.2.5. Preparação e Avaliação de Superfícies

As placas de contato foram preparadas com o meio (PCA/VRBG) passando cerca de 12 – 13 mL de meio para a placa usando uma pipeta. A quantidade de meio pode variar ligeiramente, conforme o meio usado (pela sua densidade) a placa deverá ser cheia até visualizarmos um efeito côncavo. Posteriormente cada placa foi levantada no laboratório e colocada em saco isotérmico e refrigerado. Em cada visita efetuada ao refeitório, antes de qualquer utilização, solicitámos qual a tábua usada para cortar a alface e antes da sua utilização efetuámos então o contato sob pressão das duas placas com a tábua de corte ao centro da

mesma, durante uma fração de 10 segundos. De seguida foram incubadas em estufa, para contagens totais a 30°C até 72h, e para Ea 37°C durante 24h.

2.3. Método de Análise

Realizou-se a análise quantitativa, descritiva e comparativa dos resultados utilizando-se o software the R Project for Statistical Computing (R) versão 3.1.3..

2.4. Método de Classificação

Após a leitura e interpretação dos resultados as amostras foram parametrizadas em satisfatório, aceitável e não satisfatório, segundo os valores guia apresentados pelo INSA (Santos *et al.*, 2005) na avaliação da qualidade microbiológica nos alimentos, e segundo os valores guia (Harrigan, 1998) na avaliação da qualidade microbiológicas das tábuas de corte, ambas apresentadas nas tabelas 2 e 3.

Tabela 2-Valores Guia para Alimentos

Microrganismo	Qualidade Microbiológica (ufc/g)				
	Alimento	Satisfatório	Aceitável	Não Satisfatório	Inaceitável/ potencialmente perigoso
Contagens Totais a 30°C	Alface	$\leq 10^4$	$>10^4 \leq 10^6$	$>10^6$	-
<i>Enterobacteriaceae</i>	Alface	$\leq 10^2$	$>10^2 \leq 10^4$	$>10^4$	-
<i>E. coli</i>	Alface	≤ 10	$>10 < 10^2$	$\geq 10^2$	-

(Adaptado de Santos *et al.*, 2005).

Tabela 3-Valores Guia para Tábuas de Corte

Microrganismo	Qualidade Microbiológica (ufc/g)		
	Satisfatório	Aceitável	Não Satisfatório
Contagens totais a 30°C	$<10 \text{ ufc/cm}^2$	entre 10 e 20 ufc/cm^2	$>20 \text{ ufc/cm}^2$
Coliformes Totais	$<1 \text{ ufc/cm}^2$	1 ufc/cm^2	$>1 \text{ ufc/cm}^2$

(Adaptado de Harrigan *et al.*, 1998).

2.5. Pré-requisitos do Sistema de Segurança Alimentar

Para avaliar os pré-requisitos nas instalações e a respetiva adequabilidade da zona de legumes e utensílios dos refeitórios foi elaborada uma LV.

A LV foi distribuída em alíneas por ordem alfabética desde a letra A à letra L, no sentido de acompanhar o fluxo desde a armazenamento das alfaces nos equipamentos produtores de frio (EPF), posterior à sua receção, até ao seu consumo. Por cada alínea foram criados subfactores para se observar detalhadamente o respetivo grau de cumprimento. Ambos os fatores tiveram como base a avaliação dos pré-requisitos do HACCP e a legislação em vigor.

A LV inicia-se na alínea A com a avaliação ao armário de refrigeração, designadamente, a armazenagem dos legumes, a estiva, a temperatura, o estado de higienização e o estado de conservação.

Na alínea B avaliamos a lavagem das mãos, desde a existência de lavatório para a lavagem das mãos, a localização, o acionamento não manual e respetivo funcionamento, a existência de água quente, de detergente, de desinfetante, de dispositivos de secagem, de sinalética de identificação de lavagem de mãos, o procedimento de como se lavam correamente as mãos, e se efetivamente durante todo o processo utilizam o lavatório, consoante a necessidade da lavagem das mãos.

Na alínea C das bancadas e cubas da zona de legumes, avaliamos a existência de zona específica para legumes e cuba específica para o procedimento de LDL.

Na próxima alínea D respeitante às facas verificamos a existência de facas diferenciadas, por códigos de cor, o estado de conservação, o estado de higienização, o local de armazenamento e a sua utilização.

Nas tábuas de corte correspondente à alínea E verificamos a existência de tábuas de corte, diferenciadas, por códigos de cor, o estado de conservação, o estado de higienização, o procedimento de higienização, a existência de registos, a sua utilização, a secagem e o local de armazenamento.

Na alínea F, correspondente à LDL avaliamos a existência de procedimento, a afiação no local correto, a triagem, o corte do talo, a pré-lavagem, o corte em pedaços antes ou depois da higienização, o doseamento da água para desinfeção, o doseamento do produto desinfetante, o tempo de contato, o controlo da operação, a imersão da alface por completo, a mistura de outros vegetais no processo, a lavagem das mãos depois da desinfeção, a utilização de luvas, o enxaguamento e o escorrimento. Avaliamos também nesta alínea quantos manipuladores executavam o procedimento de LDL, se o executante tem formação no procedimento e a existência de registo corretamente preenchido pelo executante.

Na alínea G, relativa ao manipulador avaliamos o fardamento, a existência de adornos, o cabelo e as unhas.

No recipiente inserido na alínea H onde se coloca a alface pós desinfecção, avaliamos o tipo de recipiente, o estado de conservação e higienização, a existência de grelha para escorrer a água armazenada e a tampa para proteção da alface pronta para consumo.

Na alínea I, referente à armazenagem e exposição de alface verificamos a armazenagem no frio, a exposição, a temperatura, o estado de conservação e a higienização do local onde se encontra a alface disponibilizada para consumo.

Na alínea J, respeitante à alface retiramos informação do fornecedor, a data de entrega, o tipo de alface e a origem da mesma.

Na alínea K, designada por HACCP avaliamos a recolha da amostra testemunha da alface, o controlo microbiológico da alface, a existência do plano HACCP, a existência de PPR ou PCC definidos para a LDL, registo para exposição a frio e as ações corretivas.

Concluindo a LV, a alínea L incide sobre a formação onde verificamos a existência do registo de formação no refeitório, como a data da formação ministrada ao(s) funcionário(s).

2.5.1. Procedimento de Lavagem e Desinfecção de Legumes

O procedimento específico de LDL dos diferentes fornecedores de refeições é analisado ao detalhe na alínea F da LV enquanto as restantes alíneas correspondem aos pré-requisitos do sistema de segurança alimentar.

Assim, as quatro empresas de restauração que fornecem refeições nos refeitórios dos SSAP (tabela 4), definem nos seus manuais de segurança alimentar, o produto desinfetante a utilizar, o tipo de solução desinfetante (líquido e em pastilhas), bem como, as diferentes dosagens e os tempos aplicados aos seus processos, conforme tabela 5.

Tabela 4-Distribuição dos refeitórios por empresa

Empresas	Refeitórios	%
Empresa 1	4	14,3
Empresa 2	18	64,3
Empresa 3	4	14,3
Empresa 4	2	7,1
Total	28	100

Tabela 5-Produtos utilizados no processo LDL pelos fornecedores de refeições

Empresas	Produto	Líquido/ Pastilhas	Doseador próprio	Processo
Empresa 1	Suma Chor D4.4	Líquido	Sim	4 lt água, 20 ml, 5 minutos
Empresa 2	Aquagen®DV	Líquido	Sim	5 lt água, 10 ml, 5 minutos
Empresa 3	FOODSAF Salad Wash	Pastilhas	---	10 lt água, 1 past, 15 minutos
Empresa 4	FOODSAF Salad Wash	Pastilhas	---	10 lt água, 1 past, 10/15 minutos

As empresas de restauração coletiva que fornecem refeições nos 28 refeitórios públicos, quando implementam o sistema de segurança alimentar, HACCP, definem procedimentos para a lavagem e desinfecção de frutas e legumes através de instruções de trabalho disponibilizadas aos seus manipuladores, conforme tabela 6.

Tabela 6-Etapas do procedimento da LDL dos fornecedores de refeições

Empresas	Processo
Empresa 1	Retirar folhas velhas (triagem); lavar energeticamente; cortar aos bocados; mergulhar na solução desinfetante; Enxaguar corretamente e colocar no frio devidamente acondicionado até servir.
Empresa 2	Lavar os vegetais; mergulhar os vegetais na solução desinfetante; escorrer e passar por água antes de servir.
Empresa 3	Escolher as porções adequadas; lavar muito bem os produtos em água corrente; mergulhar os produtos numa solução desinfetante; colocar luvas e máscara; enxaguar em água corrente e proteger com película aderente e guardar no frio até servir.
Empresa 4	Lavar os vegetais; mergulhar os vegetais na solução desinfetante; utilização de luvas após desinfecção; escorrer e passar por água 2h antes de consumir.

Recolhida a informação relativa aos produtos, dosagens e procedimentos de LDL, importa referir, que para efetuar a respetiva análise, designadamente, da utilização correta, da

água, do produto desinfetante e do tempo, utilizámos os seguintes materiais, um balde com escala de 20 litros, um copo com escala de 120 ml e um relógio.

Para efetuar a quantificação da água, primeiro observámos o procedimento habitual, de seguida questionámos qual a quantidade utilizada, para depois medirmos a água colocada na cuba anteriormente, e assim confirmar a informação inicial. De seguida procedemos para o produto desinfetante da mesma forma, observámos a habitual colocação do cloro, posteriormente questionámos sobre a quantidade de cloro utilizada e no final medimos para saber se corresponde com a informação inicial bem como, com a informação do procedimento afixado. No que respeita ao tempo solicitámos no fim do procedimento qual o tempo em contato da alface com a solução desinfetante para saber se correspondia ao tempo por nós contabilizado e observado.

Resultados

3.1. Lista de Verificação

A LV foi criada para acompanhar o fluxo desde a armazenagem das alfaces até ao seu consumo. No entanto reconhecemos ser pertinente, na apresentação dos resultados uma divisão da LV, designadamente, entre os fatores extrínsecos todos os locais e utensílios que acompanham e/ou entram em contato com a alface, e os fatores intrínsecos, os que recaem direta e especificamente sobre o processo de LDL. Portanto nesta etapa realizámos simultaneamente, através da LV, num primeiro plano a avaliação dos pré-requisitos nas instalações onde se preparam as saladas, e de seguida a avaliação ao procedimento de LDL, efetuada pela visualização decorrente da análise ao comportamento dos manipuladores por considerarmos o ponto fulcral deste trabalho.

Assim iniciada a análise na alínea A verificamos que nos fornece informação relativa aos equipamentos refrigerados existentes, designadamente, os EPF onde se armazenam os legumes. Nos refeitórios, 78,6% dos armários de frio positivo são exclusivos para produtos hortícolas (figura 4), os restantes 21,4% dos armários de refrigeração contêm outro tipo de alimentos de origem animal, como, costeletas, alheiras, ovos, bacalhau, leite, queijo, fiambre, chouriço e maionese (figura 5).



Figura 4-Armário de frio positivo exclusivo a legumes



Figura 5-Armário de frio positivo com g.a. de origem animal

Todos os refeitórios efetuam uma estiva correta e 21,4% dos refeitórios têm temperaturas adequadas aos produtos hortícolas entre os +6°C e os +8°C (figura 6), conforme informação na lista de verificação do INSA, enquanto os restantes 78,6% têm temperaturas inadequadas que vão desde +1,6°C e +5°C (figura 7).



Figura 6-Armário de frio com temperatura de 6°C



Figura 7-Armário de frio com temperatura incorreta de 3°C

No que respeita a higienização dos EPF, 50% estão devidamente higienizados (figura 8) e os restantes encontram-se com uma higienização visualmente deficiente. O estado de conservação de 85,7% dos EPF é conforme, enquanto que 14,3% dos armários de frio estão em mau estado de conservação (figura 9), designadamente, com vestígios de ferrugem. Estes armários de frio estavam ao mesmo tempo com uma higienização visualmente deficiente.



Figura 8-EPF em bom estado de conservação interior e exterior



Figura 9-EPF com ferrugem no interior

Na alínea B, verifica-se que 92,9% dos refeitórios possuem lavatórios exclusivos para a lavagem das mãos, de acionamento não manual e numa localização próxima da zona dos

legumes à exceção de dois refeitórios. Em todos os locais onde se lavam as mãos as torneiras estão em funcionamento, contudo 32,1% têm lavatórios de comando não manual, dotados de água quente & fria, enquanto os restantes 67,9% só possuem água fria. Nos refeitórios, 64,3% disponibilizam detergente, 57,1% disponibilizam desinfetante e 60,7% permitem a secagem das mãos com a disponibilização de papel em rolo ou em toalhetes (figura 10). Importa referir que da totalidade dos refeitórios, 14,3% não possuem nem detergente, nem secante, nem dispositivos de secagem das mãos (figura 11). No que concerne à sinalética identificativa da zona para lavagem das mãos, a mesma, encontra-se afixada em 53,6% dos casos, sendo que o procedimento afixado para apoio à lavagem das mãos, existe em 60,7% refeitórios (figura 10). No último item desta alínea onde referimos a necessidade de lavagem das mãos, existe um incumprimento de 100% nos refeitórios, ou seja, nenhuma funcionária adstrita ao procedimento efetua corretamente a lavagem das mãos, designadamente, ou passa as mãos somente por água enquanto muda de tarefa, ou lava e posteriormente mexe no caixote de resíduos alimentares sem nova lavagem das mãos.



Figura 10-Lavatório de comando não manual com todos os requisitos para a lavagem das mãos



Figura 11-Lavatório de comando não manual sem qualquer requisito para a lavagem das mãos

Na alínea C bancadas e cubas da zona de legumes, 92,9% dos refeitórios têm uma zona determinada para preparação de legumes com a existência de uma cuba específica para os mesmos (figura 12) enquanto dois refeitórios acumulam tarefas distintas no mesmo local mas em períodos diferentes (figura 13).



Figura 12-Zona de preparação específica para legumes



Figura 13-Zona de preparação mista (peixe e legumes)

Todos os refeitórios possuem facas diferenciadas para cada procedimento e com diferentes códigos de cores, para os utensílios utilizados na alínea D, respeitante às facas. Em 85,7% as facas apresentam um bom estado de conservação (figura 14) enquanto que as restantes apresentam mau estado de conservação desde facas partidas, amolgadas ou lâmina gasta (figura 15). Em 46,4% as facas encontram-se devidamente higienizadas enquanto que 53,6% apresentam uma higienização visual deficiente. O local de armazenamento das facas é identificado como correto, em 25% (figura 16) enquanto que em 75%, o local utilizado é incorreto, pelos seguintes motivos, as facas encontram-se em copos/cestos (figura 17), em cima de bancadas ao ar, ou então os copos, cestos e esterilizadores estão em mau estado de conservação e/ou higienização. A utilização correta das facas por cores diferenciadas para cada tarefa corresponde em 35,7% (figura 18) com as instruções de trabalho definidas, enquanto que 64,3% não corresponde com uma utilização correta como exemplifica a figura 19 com tábua de corte verde para legumes e uma faca branca utilizada na pastelaria/Bar.



Figura 14-Facas em bom estado de conservação



Figura 15-Facas em mau estado de conservação



Figura 16-Facas arrumadas no esterelizador



Figura 17-Cesto de arrumação de facas desprotegido



Figura 18-Utilização da faca correta

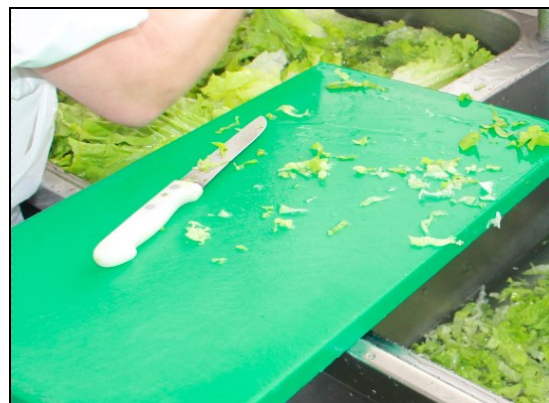


Figura 19-Utilização da faca incorreta

Outros utensílios utilizados no processo são as tábuas de corte (TC) diferenciadas por cores na alínea E, onde 96,4% são efetivamente diferenciadas e separadas por códigos de cor, e que 64,3% estão em bom estado de conservação (figura 20), enquanto que 35,7% têm tábuas em mau estado de conservação, com tábuas gastas, com fendas (figura 21), dificultando as operações de higienização. Em 50% há uma correta higienização das TC (figura 22), enquanto que nas restantes verifica-se uma má higienização das mesmas (figura 23). Todos os refeitórios que se verifica uma má conservação das mesmas (35,7%), constata-se ao mesmo tempo que a higienização é deficiente. No que concerne ao procedimento de higienização das TC regista-se que apenas 10,7% efetuam o procedimento conforme instrução de trabalho fornecida pela respetiva empresa de restauração, enquanto 89,3% não procedem em conformidade com o procedimento definido. Os registos de higienização são efetuados por 14,3%, enquanto que os restantes 85,7% não efetuam quaisquer registos de como efetuam a higienização das tábuas. A utilização correta das TC verifica-se em 75% (figura 26), e 25% (figura 27), não utilizam conforme o respetivo código de cor como exemplifica a figura com uma tábua branca do bar a cortar cebola (tábua verde) com a faca da carne (vermelha) na mesma tábua. A totalidade dos refeitórios não efetuam secagem às tábuas com recurso a papel descartável, 17,9% armazenam as TC no local correto ao abrigo de contaminações (figura 24), e 82,1% armazenam-as ao ar sem qualquer proteção (figura 25).



Figura 20-TC em bom estado de conservação



Figura 21-TC em mau estado de conservação



Figura 22-TC higienizada



Figura 23-TC com higienização deficiente



Figura 24-Armazenagem de TC num armário ao abrigo de poeiras

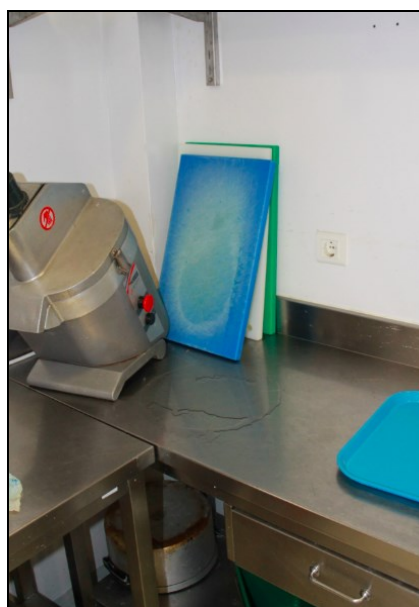


Figura 25-Armazenagem das TC desprotegidas



Figura 26-Utilização correta da TC



Figura 27-Utilização incorreta da TC

Na alínea G verifica-se que em todos os refeitórios, os manipuladores que efetuam a LDL, cumprem os requisitos obrigatórios no que respeita ao fardamento, à inexistência de adornos, unhas limpas e cortadas, à exceção de um caso de incorreta colocação da touca por parte de um manipulador.

Quando analisada a alínea H, recipiente da alface após a desinfecção da mesma, todos os refeitórios utilizam recipientes para colocar a alface, desde inox (92,9%) (figura 28), vidro (3,6%) e plástico (3,6%), no entanto um refeitório utiliza um recipiente incorreto designadamente um escorredor em inox. No que concerne à boa conservação do recipiente (100%) e à correta higienização do mesmo (96,4%) todos os refeitórios cumprem à exceção do refeitório que utiliza o escorredor de inox que estava visivelmente sujo. Dos recipientes utilizados 96,4% refeitórios não têm grelhas para escorrer o excedente de água na alface (figura 28), e 39,3% não possuem tampa do respetivo recipiente para tapar a alface desinfetada e pronta a consumir (figura 28). Nos refeitórios que tapam o recipiente, 42,9% recorrem a tampas em inox, 10,7% a película aderente e 3,6% a papel vegetal (figura 29).



Figura 28-Recipiente em inox com tampa para a alface



Figura 29-Escorredor em inox tapado por papel vegetal

Na alínea I, armazenagem e exposição de alface, existem 92,9% refeitórios que armazenam a alface corretamente no frio depois do processo de desinfecção (figura 30), enquanto que 7,1% após o processo LDL, deixam a alface à temperatura ambiente até à sua exposição. Quando se inicia a linha de self pelas 12h, 64,3% dos refeitórios possuem equipamentos adequados à exposição de saladas, nomeadamente, 42,9% são expositores de saladas de self, 7,1% são ilhas de frio para saladas, e 14,3% são expositores de sobremesas. Dos restantes 35,7% refeitórios, que por não terem equipamentos refrigerados próprios para expor a alface, colocam-na em cima de bancadas, 10,7% refeitórios colocam-na num recipiente por cima de uma cuvette com gelo para tentar aproximar das condições propícias.

Dos 64,3% refeitórios com alface exposta no frio, 60,7% mantêm uma temperatura correta nos seus equipamentos entre os +1,6°C e os +7°C, enquanto um refeitório tem um expositor de sobremesas com uma temperatura incorreta de +12°C. No que respeita a higienização e conservação destes equipamentos de frio existia um refeitório que tinha um equipamento com uma higienização deficiente e em mau estado de conservação (vestígios de ferrugem).



Figura 30-Exposição refrigerada da alface pronta para consumo

A alínea J, serve para identificar o que foi aprovisionado pelo fornecedor de cada unidade, as caixas onde eram transportadas as alfaces, se continham rótulos com a identificação do fornecedor, a data da embalagem, o tipo e a origem da alface (figura 31), porém em 14,3% refeitórios não têm qualquer menção na caixa/sacos das alfaces de quem a forneceu (figura 32), 17,9% desconhecem a data da entrega das alfaces, 42,9% não têm a data da embalagem, 39,3% não mencionam o tipo da alface existente e 42,9% não mencionam a origem da alface. Nesta alínea existem 14,3% refeitórios que não contêm qualquer informação atrás referida.

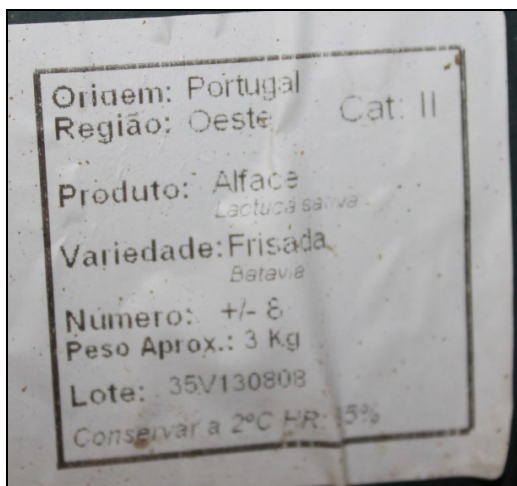


Figura 31-Rótulo a acompanhar a alface



Figura 32-Alface armazenada no frio sem qualquer rótulo

Os operadores das empresas do sector alimentar criam, aplicam e mantêm um processo ou processos permanentes baseados nos princípios HACCP com a identificação dos pontos críticos de controlo na fase ou fases em que o controlo é essencial para evitar ou eliminar um risco ou para o reduzir para níveis aceitáveis. Por conseguinte na alínea L, HACCP identificamos que todos os refeitórios efetuam recolha da amostra testemunha para as refeições conjuntamente com a saladas, nomeadamente as alfaces, no entanto nenhum efetua controlo microbiológico das alfaces fornecidas aos utentes. Não existe plano HACCP em 7,1% e 71,4% não identificam a LDL como um ponto crítico de controlo (PCC) (figura 34) enquanto que, 28,6% consideram esta fase da LDL como um PCC (figura 33). Em 25% dos refeitórios não se efetuam registos para a exposição da alface no frio e nenhum identifica ações corretivas quando os registos de frio excedem os limites mencionados no plano HACCP ou quando os requisitos do processo (água, produto desinfetante e tempo) estão fora dos limites definidos.

Quadro de Gestão do Controlo de PCC's							Data: 17/09/2007	
R-001/D			Pág. n.º 1/1		Versão n.º 3			
ETAPA	PCC	PERIGO	MEDIDAS PREVENTIVAS	LIMITE CRITICO / NIVEL OBJECTIVO	SISTEMA VIGILANCIA	FREQUENCIA VIGILANCIA	ACÇÃO CORRECTIVA	RESPONSÁVEL
Recepção	PCC1	Biológico - Crescimento microbiano	R-007 R-008	Ver tabela em R-012	R-008	Todos os alimentos recepcionados em câmara de frio	R-011	Resp. de Unidade ou colaborador por ele indicado
Armazenamento	PCC2	Biológico - Crescimento microbiano	R-014 R-015	R-014 (0° a +6°C) R-015 (-24° a -18°C)	R-014 R-015	Mínimo 2X Dia	R-014 R-015	
Cozinha Fria	PCC3	Biológico - Insuficiente redução microbiana Químico - Resíduos de desinfectante nos vegetais	R-019 DTR-010	R-019 DTR-010	R-019 DTR-010	Sempre que se realiza desinfecção de frutas e legumes	Repetir desinfecção/ enxaguamento. Calibração da medida da água/ nº pastilhas	
Cozinha Quente	PCC4	Biológico - Insuficiente redução microbiana	R-020 RCC - 006	R-020 / RCC - 006 (+75°C)	R-020 RCC - 006	Todos os pratos com ingredientes de origem animal	R-020 RCC - 006	
Cozinha Quente	PCC5	Químico - Contaminantes da degradação do óleo frita	R-021	Tmáx. = 180°C CPT = 17 a 24%	R-021	Sempre que ocorram frituras / Mínimo 1x semana	R-021	
* Arrefecimento	PCC6*	Biológico - Crescimento microbiano	RCC - 007	RCC - 007 (< +3°C / < 90 min.)	RCC - 007	Diário	R-023 R-024 RCC - 008	
Manutenção	PCC7	Biológico - Crescimento microbiano	R-023 R-024 RCC - 008	R-023 (<10°C) R-024 (>65°C) RCC - 008 (<+3°C)	R-023 R-024 RCC - 008	Diário	RCC - 010	
* Regeneração	PCC8*	Biológico - Insuficiente redução microbiana	RCC - 010	RCC - 010 (+70°C)	RCC - 010	Diário	R-023 R-024 RCC - 009	
Distribuição	PCC9* PCC8	Biológico - Crescimento microbiano	R-023 R-024 RCC - 009	R-023 (<10°C) R-024 (>65°C) RCC - 009 (<+10°C)	R-023 R-024 RCC - 009	Diário		

Figura 33-Sistema HACCP – Identificação de PCC's para a LDL.

Manual Higiene e Segurança Alimentar Sistema HACCP Identificação PCC's							Data: 15/12/2006	
Etapa	Perigo	Medidas de Controlo	P1	P2	P3	P4	PCC?	Notas
Preparação de: - Vegetais / frutas	Contaminação microbiológica: - Carga do vegetal / fruta; - Presença de parasitas (ex: presença eventual de larvas nas folhas de saladas)	Correcta lavagem e desinfecção dos vegetais / frutas Correcto doseamento do produto e enxaguamento	S	N	N	-	N	
Preparação de frios (ex. Saladas; Fatiados)	Contaminação microbiológica por falta de higiene pessoal	Boas práticas de higiene pessoal	S	N	N	-	N	
	Contaminação microbiológica por falta de higiene dos utensílios / equipamentos/ planos de trabalho (contaminação cruzada)	Cumprimento de planos/métodos de higienização Utilização de utensílios diferenciados (crus/cozinhados) Operações realizadas em momentos diferentes (charcutaria/queijos)	S	N	N	-	N	

Figura 34-Sistema HACCP – LDL não identificada como PCC's

Na última alínea correspondente a formação, 82,1% não fornecem aos seus manipuladores qualquer formação relativa a LDL no ano transato, conforme legislação em vigor. Os resultados globais da LV podem ser observados com o respetivo grau de incumprimento no gráfico 1.

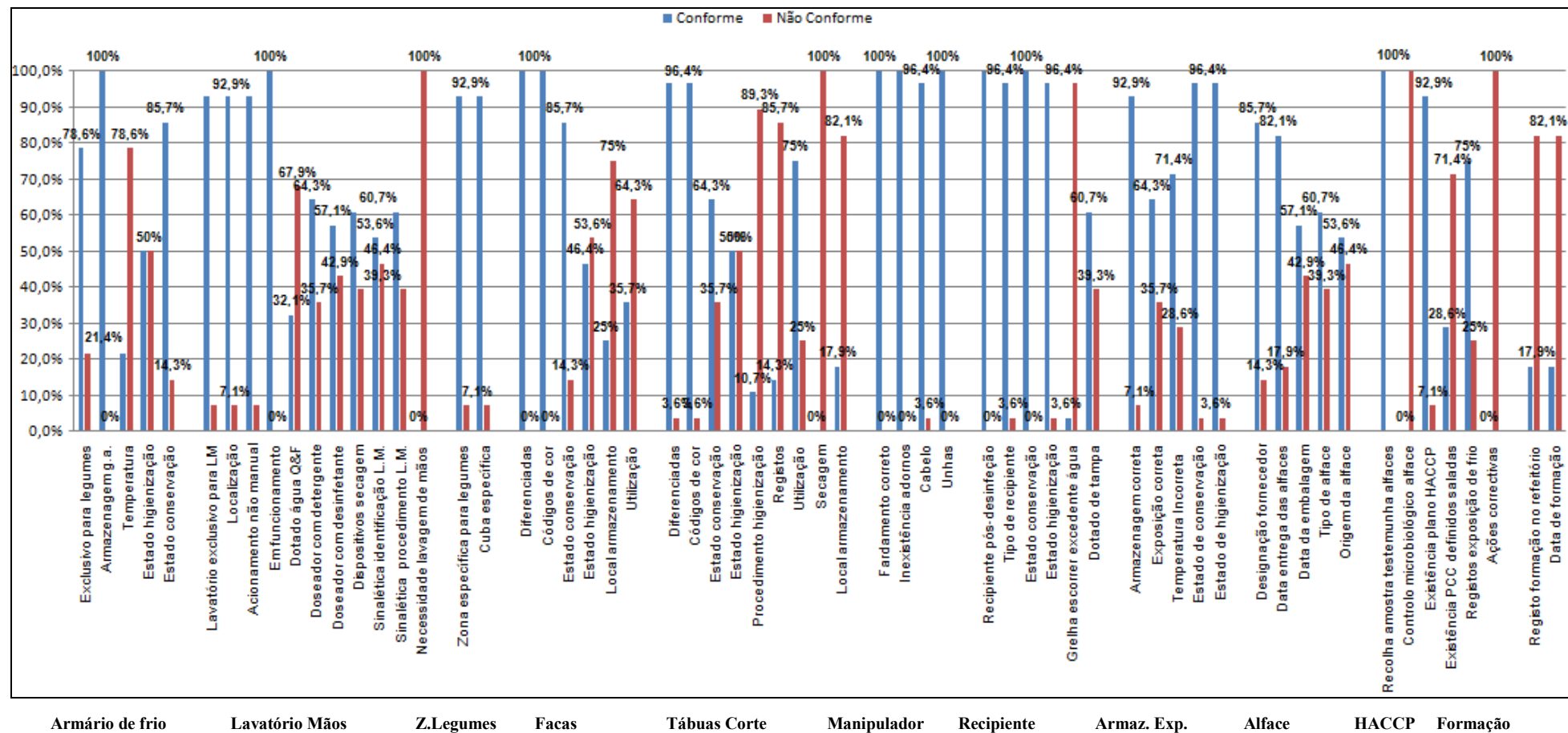


Figura 35-Pré-requisitos do HACCP no processo de L.D.L nos refeitórios

3.1.1 Processo de Lavagem e Desinfecção de Legumes

O fator com o maior grau de pertinência é especificamente o processo da LDL, assim vamos analisá-lo com base na alínea F da LV.

Assim verificamos que 67,9% dos refeitórios têm o procedimento da LDL na unidade e 32,1% não têm qualquer indicação ou instrução de trabalho no refeitório para apoiar na LDL. Dos 67,9% com o procedimento no refeitório, 53,6% têm as instruções de trabalho do procedimento colocadas no local adequado (figura 36), ou seja, onde se procede à desinfecção das frutas e legumes, enquanto, que 14,3% não têm a instrução de trabalho afixada no local correto (figura 37), encontra-se noutra zona do refeitório, ou na pasta de qualidade do fornecedor de refeições.



Figura 36-Zona de Legumes com intrução de trabalho de LDL



Figura 37-Zona de Legumes sem intrução de trabalho para LDL

No que respeita ao cumprimento do procedimento de LDL nas etapas iniciais, designadamente, triagem (figura 38), corte do talo e pré-lavagem, verificamos que, 14,3% dos refeitórios não efetuam a triagem da alface, com a gestão da escolha das folhas exteriores, que se podem encontrar danificadas, 7,1% não fazem o corte do talo, optam por colocar a alface inteira na solução desinfetante, 32,1% não fazem a pré-lavagem.

Destes 32,1%, 18% fazem a triagem, corte do talo, mas não efetuam a pré-lavagem, passando logo de seguida à desinfecção, 7,1% não fazem a triagem, mas efetuam corte do talo, e também não fazem a pré-lavagem passando de seguida à desinfecção, os restantes 7,1% não fazem nenhuma destas três fases iniciais triagem, corte do talo e pré-lavagem passando diretamente para a desinfecção sem qualquer preparação e/ou escolha prévia das alfaces.

A empresa 1, com 14,3% dos refeitórios, têm definido no seu procedimento de LDL, primeiro o corte da alface em pedaços e só depois o início do processo de desinfecção (figura 40), enquanto, as restantes empresas com 85,7%, primeiro desinfetam a alface e só depois a

cortam em pedaços (figura 39). A empresa 1 pretende com este procedimento restringir ao máximo, depois da alface desinfetada, o contato com qualquer utensílio, tábua de corte, e manipulador evitando contaminações cruzadas.

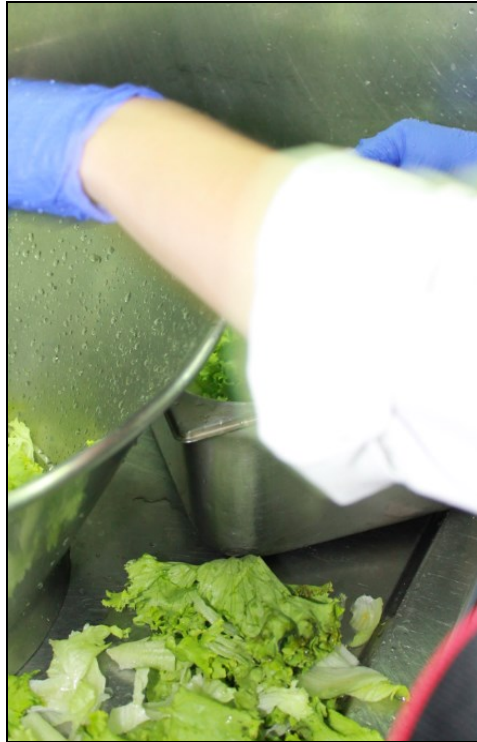


Figura 38-Triagem das alfaces com a separação das folhas velhas



Figura 39-Desinfecção seguida de corte



Figura 40-Corte seguido de desinfecção

Na figura 41 podemos ver os produtos utilizados no processo de LDL pelos diferentes fornecedores de refeições, estão assim identificados os três componentes fundamentais ao sucesso do processo designadamente, a água, o cloro e o tempo de contato entre a água e o cloro.

A água é a primeira variante destes 3 componentes a ser preparada pelas funcionárias nos refeitórios. No que concerne, exclusivamente à utilização da água, existem 25% com a medição da dosagem correta, os restantes 75% depois de confirmada a medição, a mesma encontra-se desfasada e com uma sobredosagem da quantidade mencionada pelo manipulador em 75%, desde 1 litro até aos 55 litros, à exceção de um refeitório, que têm subdosagem. Depois de medida e confirmada a água definimos esses valores como ponto de partida para saber se o cloro e o tempo se encontram proporcionais ao procedimento LDL, definido na tabela 5, para posterior avaliação e validação.

Na utilização do produto desinfetante verifica-se que em 89,3% dos refeitórios utilizam cloro para a desinfecção dos legumes e frutas (figuras 42), e 10,7 % no procedimento estava mencionado cloro como solução desinfetante, no entanto, utilizam vinagre para a LDL. Dos 89,3% que utilizam cloro verifica-se que somente 3,6% têm a dosagem correta. Dos que têm dosagens incorretas e depois de confirmada a medição, verifica-se uma subdosagem em 50% dos refeitórios e uma sobredosagem nos restantes em 35,7%, conforme demonstra o gráfico 2. Nos 10,7% refeitórios que utilizam vinagre na desinfecção de legumes, um têm a dosagem correta indicada no procedimento para o cloro, outro têm sobredosagem e o restante têm uma subdosagem. Dos 89,3% refeitórios que utilizam cloro na desinfecção, 67,9% utilizam cloro líquido e 21,4% utilizam cloro em pastilhas (figura 42).

Na utilização do cloro, a empresa nº 1, contempla uma subdosagem em todos os seus refeitórios (14,3%). A empresa nº 2, na utilização do cloro nos refeitórios contempla uma sobredosagem em 21,4%, uma subdosagem em 28,6%, e uma dosagem correta num refeitório. Esta empresa é a única a utilizar vinagre em 10,7% dos refeitórios. A empresa nº 3, na utilização do cloro nos refeitórios, contempla uma sobredosagem em 10,7%, uma subdosagem em 3,6%. A empresa nº 4, na mesma utilização do cloro nos refeitórios, contempla uma sobredosagem em 3,6%, uma subdosagem em 3,6%. Estas duas ultimas empresas utilizam pastilhas no seu processo de LDL.



Figura 41-Três tipologias de desinfetante utilizadas pelos fornecedores

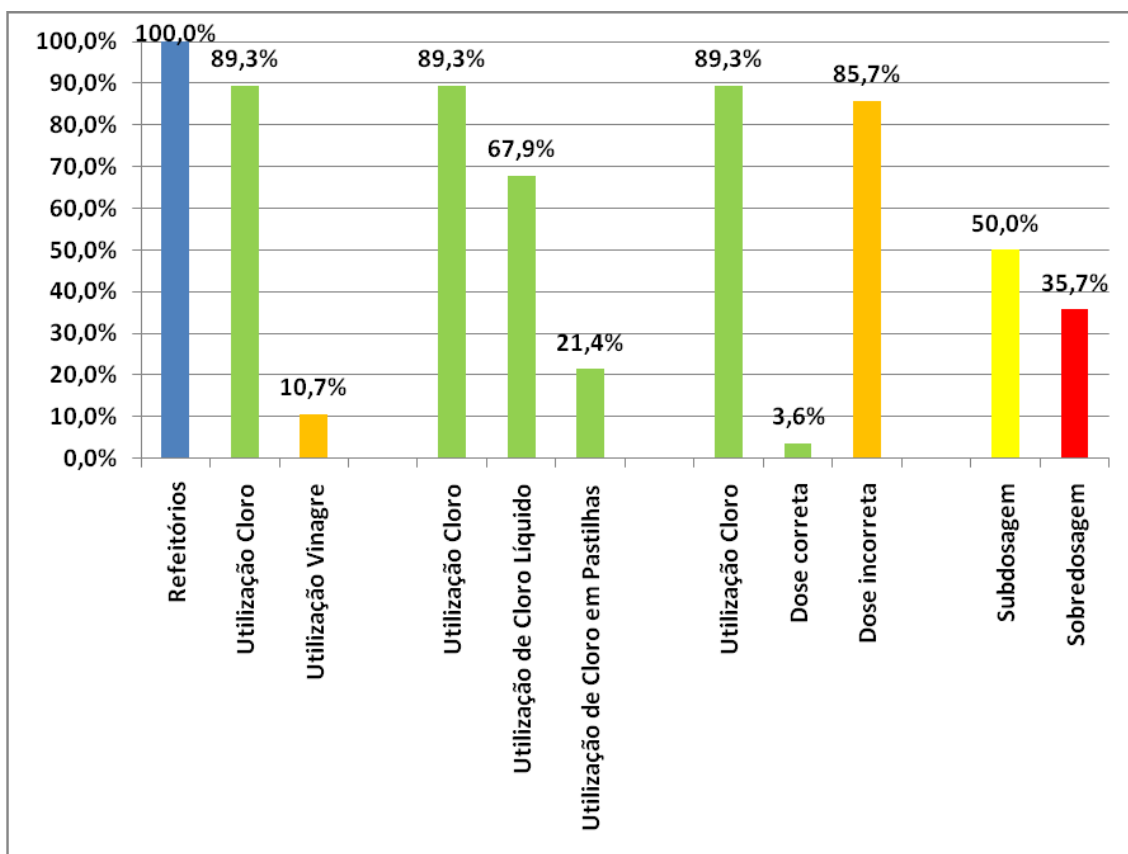


Figura 42-Desinfetante e dosagens utilizadas no processo de LDL (%)

No que concerne à última variável do processo, o tempo observamos que 28,6% utilizam o tempo de contato definido no procedimento, contrariamente aos restantes 71,4% que incumprem neste ponto importante do processo, entre o contato das alfaces com água e a solução desinfetante. Assim dos 71,4% refeitórios com utilização incorreta de tempo, 64,3% têm um período de contato em excesso ao estipulado e os restantes 7,1% têm um período de contato inferior ao definido nas instruções de trabalho, conforme figura 43.

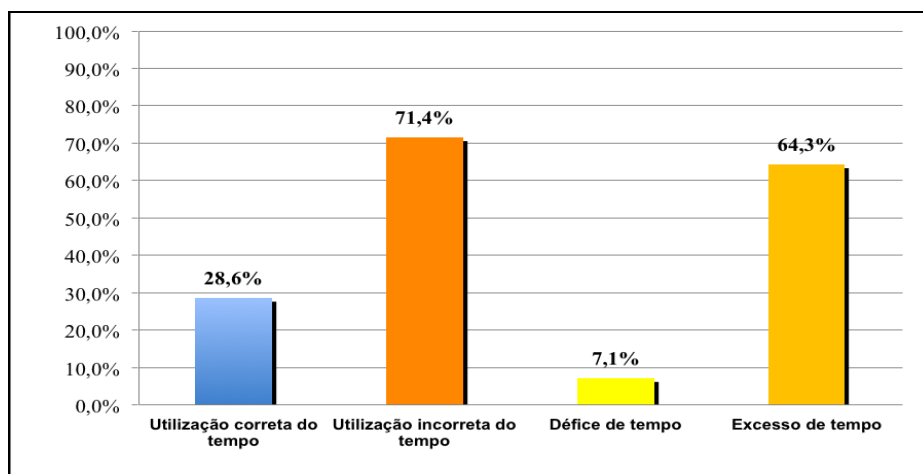


Figura 43-Tempo utilizado no processo de LDL (%)

Ao avaliarmos esta fase do procedimento determinante verificamos que existe unicamente um refeitório (3,6%) que efetue o processo correto na dosagem da água, do produto desinfetante e do tempo utilizado. Por conseguinte verifica-se que nenhum efetua um controlo das operações de LDL, tanto da água, como do cloro, como do tempo, conforme demonstra o gráfico 4.

No decurso do processo decorrente da LDL (figura 44) a próxima fase corresponde à imersão completa do vegetal em contato com a água e produto desinfetante (figura 46), porém 32,1% não cumprem (figura 47), e 60,7% misturam outros vegetais no processo da desinfecção como tomate, pepino e cenoura (figura 45).



Figura 44-Desinfecção de alface



Figura 45-Desinfecção de alface conjuntamente com tomate



Figura 46-Alface submersa em contato com a solução desinfetante

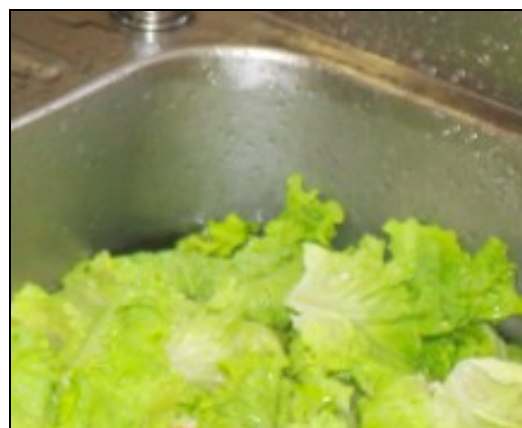


Figura 47-Alface fora do contato da solução

Em 92,9% dos refeitórios os manipuladores no decorrer do processo de LDL, numa etapa importante, designadamente, depois da alface se encontrar desinfetada não lavam as mãos para efetuar o enxaguamento e o escorrimento, em alguns casos colocam luvas enquanto se encontra a decorrer o processo de desinfecção, vão efetuar outras tarefas e voltam ao processo

anterior ou utilizam luvas durante todo o processo. Em 50% utilizam as luvas incorretamente, desde, não lavar as mãos antes de colocar as luvas, até colocar as luvas e efetuar diversas tarefas distintas originando contaminações cruzadas. Durante o processo existem 10,7% dos refeitórios que não efetuam o enxaguamento e 46,4% não efetuam o escoamento do excedente de água das alfaces (figura 48).



Figura 48-Escoamento excedente de água acumulado na alface

Relativamente à formação 67,9% as empresas de restauração não ministram sobre o procedimento específico de LDL aos seus manipuladores, e o procedimento é executado em 46,4% por um manipulador, em 17,9%, por dois e em 35,7% por três, sendo que nenhum efetua corretamente o respetivo registo do procedimento (figura 49).

DESINFECÇÃO (PCC 1)				C	NC	NV
Alimento	Início Desinf (h)	Fim Desinf (h)	n.º pastilhas/ quantidade água			
Pes.	8.10	8.15	6p. 20L	α		
salada	9.20	9.25	6p. 20L	α		
fruta	11.10	11.15	6p. 20L	α		

Figura 49-Registo da lavagem e desinfeção de legumes

No que respeita ao procedimento de LDL desde a suas fase inicial até à fase final podemos verificar que alguns incumprimentos são totais como o controlo da operação e os registos conforme demonstra a figura 50.

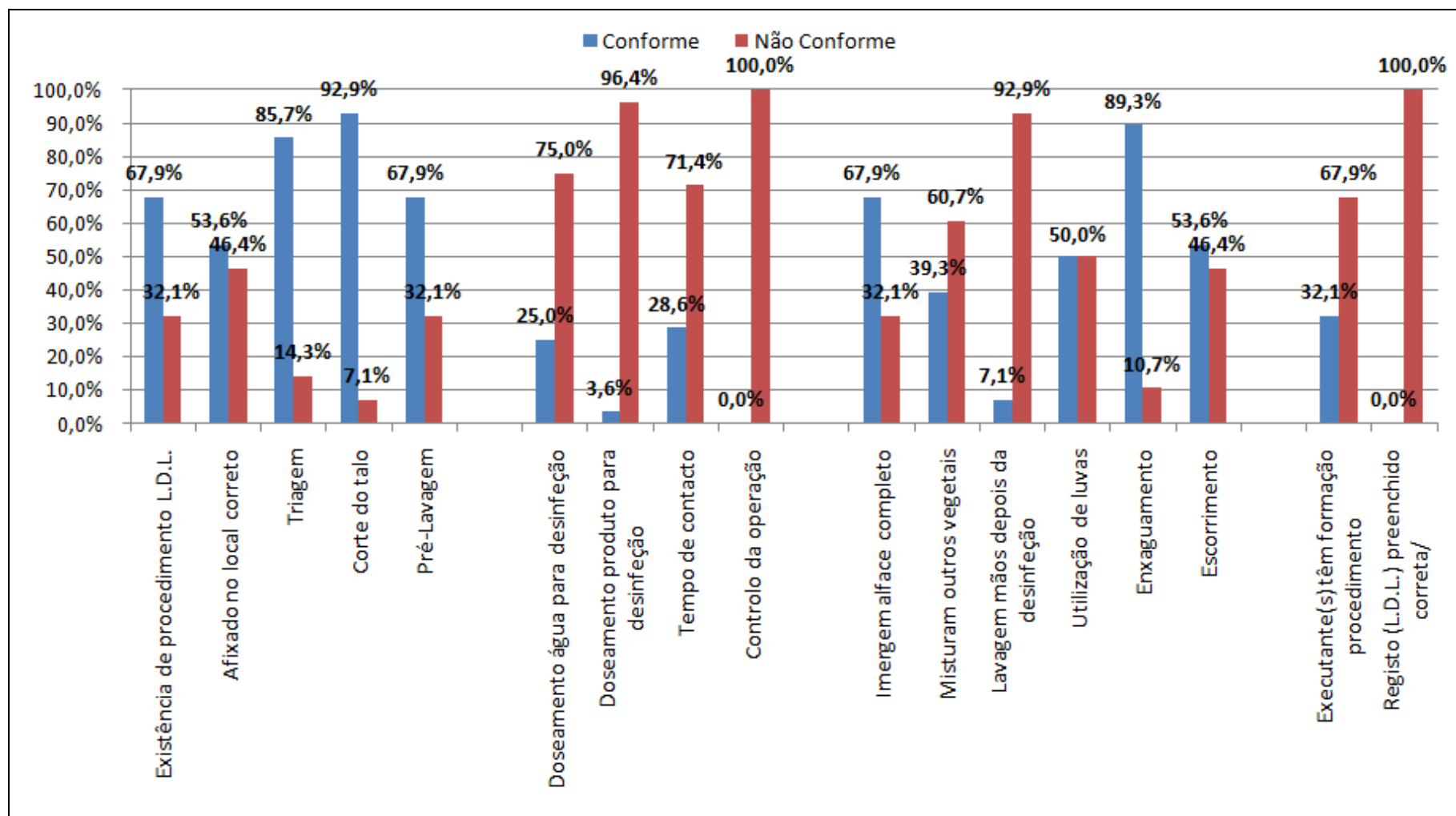


Figura 50-Procedimento de lavagem e desinfecção de legumes praticado pelas empresas de fornecimento de refeições

3.2. Valores das Contagens

Na tabela 7 constam os valores mínimo e máximo, os quartis, a média e desvio padrão das contagens de microrganismos viáveis totais a 30°C, Ent. e *E. coli*, nas três fases do processo de LDL.

Tabela 7-Medidas de estatística descritiva (Log (ufc/g))

Variação	Produto (ufc/g)	Mínimo	Q1	Mediana	Q3	Máximo	Média	DP
Contagens totais a 30° C	Nat	5.15	6.90	7.26	7.79	9.18	7.98	8.46
	Pd	4.18	5.29	5.67	6.47	8.86	7.55	8.14
	Exp	3.59	5.37	5.66	6.16	9.70	8.28	8.98
<i>Enterobacteriaceae</i>	Nat	3.36	4.47	5.30	5.70	6.11	5.52	5.56
	Pd	1.85	3.01	3.54	4.36	5.45	4.59	4.87
	Exp	1.49	3.24	3.83	4.30	5.28	4.36	4.62
<i>E. coli</i>	Nat	<1	<1	<1	2.05	3.66	2.41	2.94
	Pd	<1	<1	<1	<1	2.45	1.07	1.72
	Exp	<1	<1	<1	<1	1.91	<1	1.21

3.3. Avaliação da Qualidade Microbiológica das Alfaces

As amostras foram classificadas em três níveis de qualidade microbiológica – satisfatório (S), aceitável (A) e não satisfatório (NS), com base nos valores guia para avaliação da qualidade microbiológica dos alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração (Santos *et. al*, 2005).

Tabela 8- Caracterização e Avaliação da Qualidade Microbiológica das Alfaces em (%) Pd e em Exp.

Microorganismos	Produto (ufc/g)	Satisfatório	Aceitável	Não Satisfatório
Contagens Totais a 30°C	pós-desinfecção	---	18 (64,3%)	10 (35,7%)
	exposição	1 (3,6%)	18 (64,3%)	9 (32,1%)
<i>Enterobacteriaceae</i>	pós-desinfecção	1 (3,6%)	17 (60,7%)	10 (35,7%)
	exposição	1 (3,6%)	15 (53,6%)	12 (42,9%)
<i>E. coli</i>	pós-desinfecção	25 (89,3%)	2 (7,1%)	1 (3,6%)
	exposição	25 (89,3%)	3 (10,7%)	---

Na tabela 8 podemos verificar a classificação das amostras e a diferença nas contagens, entre as duas fases do processo pd e em exp, enquanto que na tabela 9 com base nos mesmos critérios podemos observar os resultados da amostra em exposição bem como a aceitabilidade final das amostras das alfaces.

Tabela 9- Caracterização e Avaliação da Qualidade Microbiológica das Alfaces em (%) Pd e em Exp.

Microorganismo	Qualidade Microbiológica (ufc/g)		
	Satisfatório	Aceitável	Não Satisfatório
Contagens totais a 30°C	1 (3,6%)	18 (64,3%)	9 (32,1%)
<i>Enterobacteriaceae</i>	1 (3,6%)	15 (53,6%)	12 (42,9%)
<i>E.coli</i>	25 (89,3%)	3 (10,7%)	-
Classificação Final	1 (3,6%)	12 (42,9%)	15 (53,6%)

Quando analisadas as amostras para as contagens totais a 30°C nas alfaces em exposição verifica-se que existe apenas 3,6% da amostra considerada satisfatória, 64,3% das amostras classificadas como aceitáveis, e 32,1% das amostras classificadas como não satisfatórias.

Nas amostras para as contagens de *Enterobacteriaceae* nas alfaces analisadas verifica-se que existe apenas uma 3,6% amostra considerada satisfatória, 53,6% das amostras consideradas aceitável, e 42,9% das amostras não satisfatórias.

De acordo com as amostras para as contagens de *E. coli* nas alfaces analisadas verificamos que é onde reside o valor mais elevado nomeadamente, 89,3% de amostras consideradas satisfatórias, e 10,7% das amostras consideradas como aceitável, sendo que não existe valores de amostras não satisfatórias.

Concluindo no que respeita à classificação total das amostras mencionada na tabela 9, e de todas as alfaces analisadas, em exposição e prontas a ser consumidas, apenas 3,6% das amostras são consideradas satisfatórias, 42,9% são consideradas aceitável, e mais de metade 53,6%, são não satisfatórias.

3.4. Classificação das tábuas de corte em função do parâmetro microbiológico

A avaliação microbiológica das tábuas de corte no momento anterior à desinfecção da alface foi efetuada com base em valores referenciados (Harrigan *et. al*, 1998).

Tabela 10-Classificação e Avaliação da Qualidade Microbiológica das TC em (%)

Microrganismo	Qualidade Microbiológica (ufc/g)		
	Satisfatório	Aceitável	Não Satisfatório
Contagens totais a 30°C	28,6%	7,1%	64,3%
<i>Enterobacteriaceae</i>	64,3%	-	35,7%
Classificação Final	25%	7,1%	67,9%

Analisadas as TC na tabela 10 podemos aferir a possível recontaminação da alface através dos utensílios, depois de ser desinfetada, constatamos que nas CT 28,6% são resultados satisfatórios, com uma redução para 7,1% aceitáveis e com 64,3% de resultados não satisfatórios. Na tabela 3 os valores não satisfatórios para as CT são > a 20 ufc/cm², no entanto as TC continham valores desde 31 a 1750 ufc/cm².

Nas enterobactérias 64,3% são resultados satisfatórios, com inexistência de resultados aceitáveis e 35,7% de não satisfatórios. Concluindo a avaliação microbiológica das TC verificamos que 25% são resultados satisfatórios, 7,1% resultados aceitáveis, finalizando com

67,9% de resultados não satisfatórios. No mesmo gráfico os valores não satisfatórios para as Enterobactérias são > 1 ufc/cm², no entanto verificaram-se valores nas TC desde 3 a 276 ufc/cm².

3.5. Análise de correlações

Utilizou-se o coeficiente de correlação de Spearman e gráficos de dispersão para avaliação do grau da correlação entre as CT, em Pd e Exp, entre as contagens de Ent. em Pd e Exp e entre as CT e contagens de enterobactérias.

Através da análise dos gráficos de dispersão (figuras 51 a 55) e do valor do coeficiente de correlação de Spearman, observou-se o seguinte: inexistência de correlação entre as CT Nat e Pd ($p=0.973$); existência de correlção positiva moderada entre entre CT Pd e Exp ($\rho=0.51$, $p<0.01$); existência de correlação positiva moderada entre as contagens de enterobactérias Nat e Pd ($\rho=0.51$, $p<0.01$) e Pd e Exp ($\rho=0.64$, $p<0.001$); existência de correlação positiva fraca entre CT Nat e enterobactérias Nat ($\rho=0.49$, $p<0.01$) e entre CT Exp e enterobactérias Exp ($\rho=0.38$, $p<0.05$) e existência de correlação positiva moderada entre CT Pd e enterobactérias Pd ($\rho=0.56$, $p<0.01$).

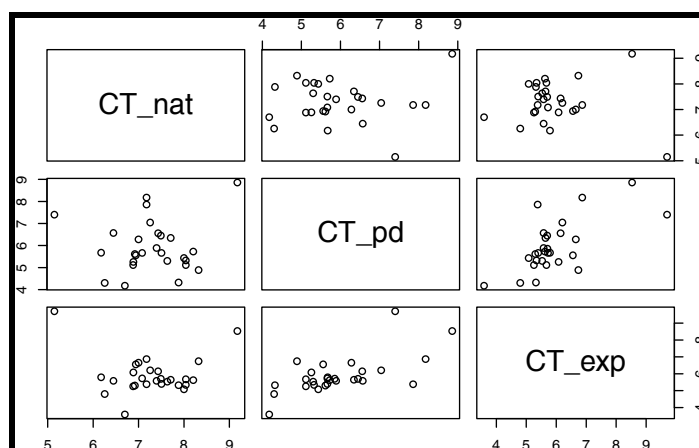


Figura 51-Dispersão contagens totais a 30°C

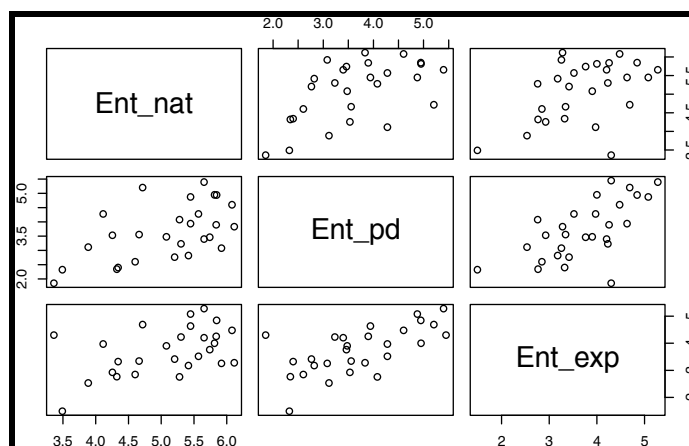


Figura 52-Dispersão Enterobacteriaceae

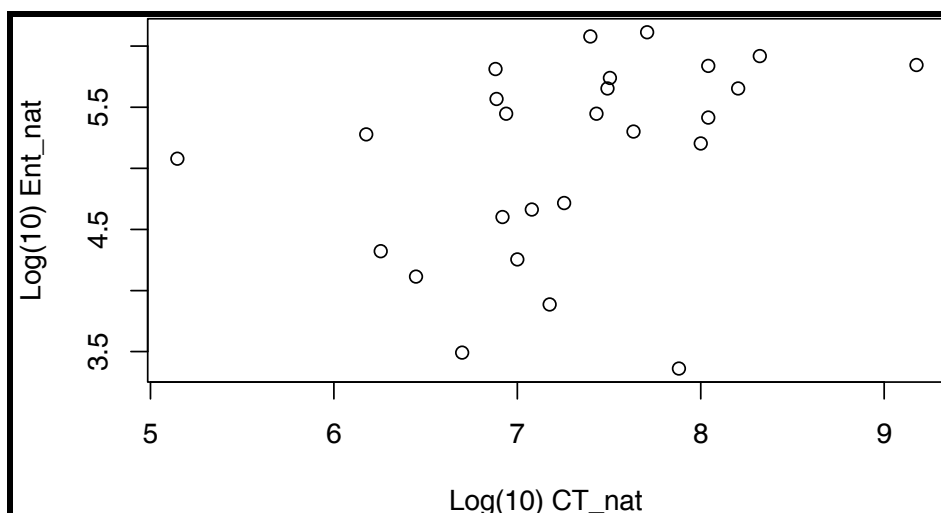


Figura 53-Dispersão de CT vs *Enterobacteriaceae* em Nat

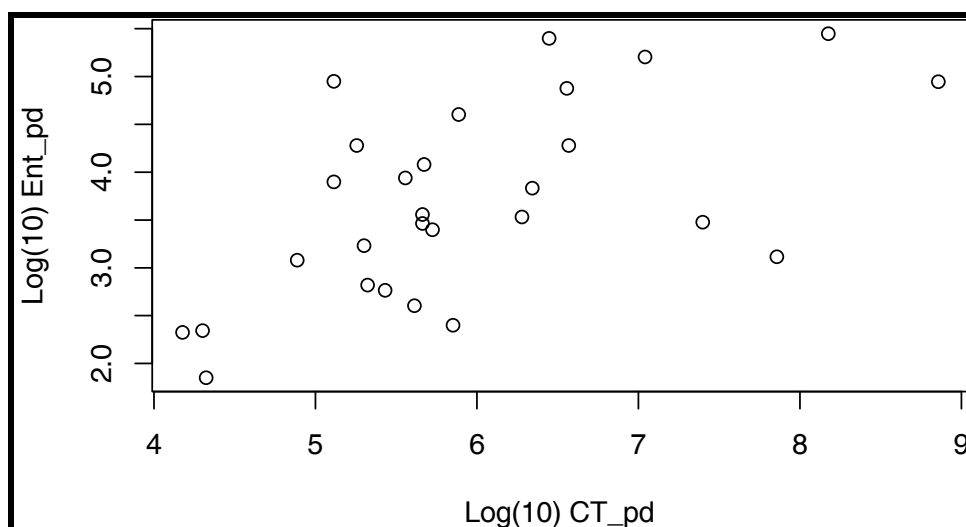


Figura 54-Dispersão de CT vs *Enterobacteriaceae* Pd

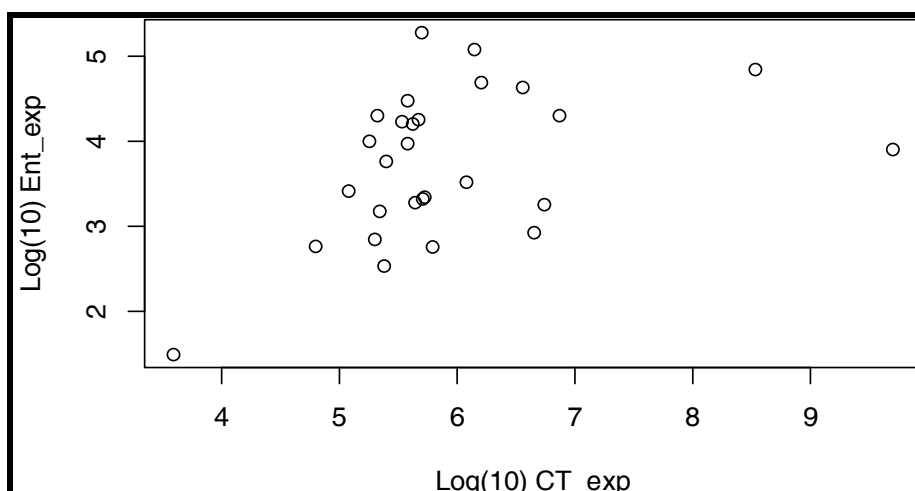


Figura 55-Dispersão de CT vs *Enterobacteriaceae* em Exp

3.6. Comparações entre grupos

3.6.1. Comparação das contagens totais a 30°C entre os grupos Nat, Pd e Exp.

A tabela 11 representa o número de observações (nº de amostras analisadas) em cada uma das fases do processo LDL (amostras emparelhadas).

A significância da evolução nas CT a 30°C nas três fases do processo de lavagem e desinfecção (natureza, pós-desinfecção e exposição) foi avaliada com recurso ao teste não paramétrico de Friedman, seguido de comparações múltiplas não-paramétricas.

As CT sofreram alterações significativas entre as três fases ($X^2F(2)=27,19$; $p<0.001$) (Tabela 12). Como ilustra a figura 56, o valor das CT decresceu significativamente da fase em natureza para a pós-desinfecção. As diferenças estatisticamente significativas ocorreram entre as contagens em natureza e as contagens em pós-desinfecção ($p<0.001$) e em exposição ($p<0.001$). As contagens nas fases pós-desinfecção e exposição não diferem significativamente entre si ($p=0.662$) (Tabela 13).

Tabela 11-Frequências absoluta da variável Fase

Fase	n
Natureza	28
Pós-desinfecção	28
Exposição	28

Tabela 12-Friedman rank sum test para comparação das CT em alface nas três fases LDL

Test statistic	df	P value
27.19	2	1.25e-06 ***

Tabela 13-Comparações múltiplas não-paramétricas entre as fases de LDL – CT

Varição	Fases	p	sig
CT	natureza / pós-desinfecção	0.000	***
CT	natureza / exposição	0.000	***
CT	pós-desinfecção / exposição	0.662	ns

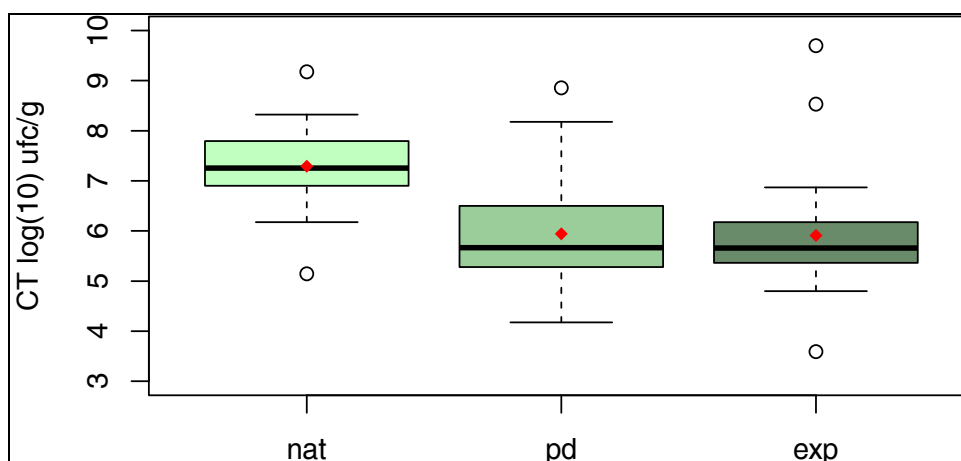


Figura 56-Distribuição das CT em função da fase do processo de lavagem e desinfecção (nat, pd e exp). Os pontos representam o valor médio

3.6.2. Comparação das contagens de Enterobactérias entre os grupos Nat, Pd e Exp.

Para avaliarmos se a fase do processo de lavagem e desinfecção das alfaces influencia significativamente as contagens de Enterobactérias, recorremos ao teste não paramétrico de Friedman, seguido de comparações múltiplas não paramétricas entre grupos (tabelas 14 e 15). Através da análise dos resultados concluímos que a fase de LDL tem um efeito significativo nas contagens de Enterobactérias ($X^2_{KW}(2) = 29.17$; $p < 0.001$). De acordo com o resultado das comparações múltiplas não-paramétricas, existem diferenças significativas nas alfaces em Nat, comparativamente às alfaces Pd e Exp sendo na alface em natureza que se observam maiores contagens. Podemos ainda concluir que as contagens de Enterobactérias não diferem significativamente entre as alfaces Pd e Exp (tabela 15 e figura 57).

Tabela 14-Friedman rank sum test para comparação de enterobactérias em alface nas três fases LDL

Test statistic	df	P value
32	2	<i>1.125e-07 ***</i>

Tabela 15-Comparações múltiplas não-paramétricas entre os grupos – Enterobactérias

Varição	Fases	p	sig
Ent	Nat/Pd	0.000	***
Ent	Nat/Exp	0.000	***
Ent	Pd/Exp	0.991	ns

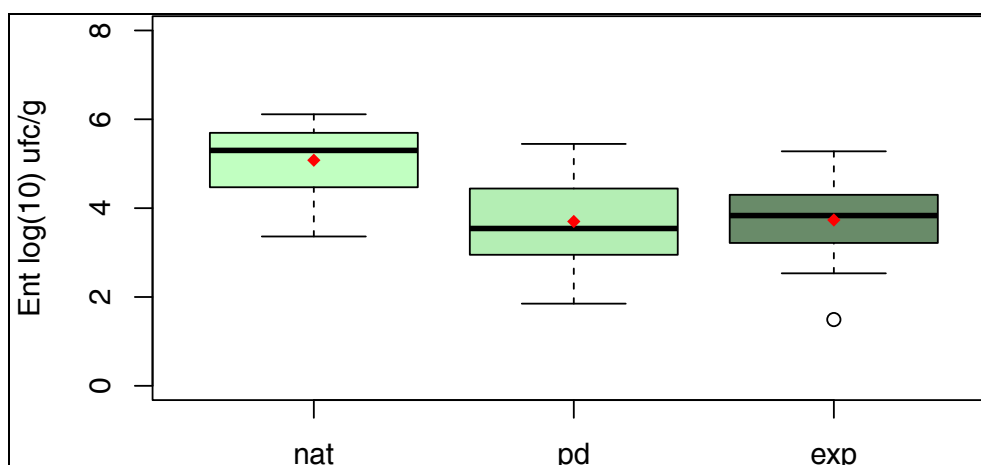


Figura 57-Distribuição da variável Log_Ent das contagens de enterobactérias em função da fase do processo de LDL. Os pontos representam o valor médio

3.6.3. Comparação das contagens totais a 30°C e contagens de Enterobactérias Pd em função do processo de LDL (correto/incorrecto).

A tabela 16 representa o número de observações (número de alfaces analisadas) em função da classificação do processo de lavagem e desinfecção (correto/incorrecto). Através da sua análise podemos observar que apenas num dos casos a LDL foi classificada como correta, no doseamento da água, do produto desinfetante como do tempo correto. A figura 58 representa a distribuição das CT e das contagens de enterobactérias em função do processo LDL (correto/incorrecto).

Tabela 16-Frequências absolutas – classificação do processo de lavagem e desinfecção (água, cloro e tempo)

Processo	n
Correto	1
Incorreto	27

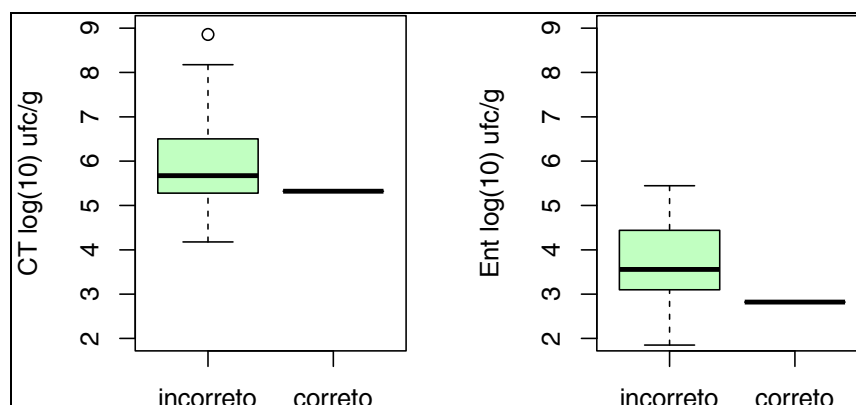


Figura 58-Distribuição CT e contagens de enterobactérias em função da classificação de LDL

3.6.4. Comparação das contagens totais a 30°C e contagens de Enterobactérias nas alfaces em exposição (exp) em função da classificação das tábuas quanto a conservação, higiene e utilização (conforme/não conforme).

Nas tabelas 17, 18 e 19 consta o número de observações (número de alfaces analisadas), para cada uma das categorias de classificação das tábuas de corte no que repeita a conservação, higiene e utilização.

Tabela 17-Frequências absolutas – classificação das tábuas quanto à conservação

Processo	n
Conforme	18
Não Conforme	10

Tabela 18-Frequências absolutas – classificação das tábuas quanto à higiene

Processo	n
Conforme	14
Não Conforme	14

Tabela 19-Frequências absolutas – classificação das tábuas quanto à utilização

Processo	n
Conforme	21
Não Conforme	7

Para avaliar se a utilização e o estado de conservação e higienização das tábuas de corte influência significativamente as contagens totais e as contagens de Ent. nas alfaces em exposição, recorreu-se ao teste não paramétrico de Wilcoxon-Mann-whitney (tabelas 20 a 25).

Através da análise dos resultados verificou-se que não existem diferenças significativas nas CT entre as tábuas classificadas conforme e aquelas classificadas não conforme quanto a conservação ($p = 0.666$), higienização ($p = 0.927$) e utilização ($p = 0.222$).

Também não se observaram diferenças significativas nas contagens de entre as tábuas classificadas conforme e aquelas classificadas não conforme quanto a conservação ($p = 0.502$) e higienização ($p = 0.801$). No entanto observaram-se diferenças significativas, considerando um nível de significância de 5%, nas contagens de enterobactérias entre as tábuas classificadas conforme e aquelas classificadas não conforme quanto a utilização ($p < 0.05$)

Tabela 20-Wilcoxon rank sum test with continuity correction– comparação das CT em função do estado de conservação das tábuas de corte

Test statistic	P value	Alternative hypothesis
99.5	0.666	two.sided

Tabela 21-Wilcoxon rank sum test with continuity correction-comparação das CT em função da higienização das tábuas de corte

Test statistic	P value	Alternative hypothesis
100.5	0.9268	two.sided

Tabela 22-Wilcoxon rank sum test with continuity correction-comparação das CT em função da utilização das tábuas de corte

Test statistic	P value	Alternative hypothesis
97	0.2223	two.sided

Tabela 23-Wilcoxon rank sum test with continuity correction–comparação das contagens de enterobactérias em função do estado de conservação das tábuas de corte

Test statistic	P value	Alternative hypothesis
75.5	0.502	two.sided

Tabela 24-Wilcoxon rank sum test with continuity correction– comparação das contagens de enterobactérias em função da higienização das tábuas de corte

Test statistic	P value	Alternative hypothesis
92	0.8005	two.sided

Tabela 25-Wilcoxon rank sum test with continuity correction– comparação das contagens de enterobactérias em função da utilização das tábuas de corte

Test statistic	P value	Alternative hypothesis
113	0.0385 *	two.sided

3.6.5. Comparação das contagens totais a 30°C e contagens de Enterobactérias nas alfaces em exposição (exp) em função da classificação final das tábuas (NS/A/S)

A tabela 26 representa o número de observações (número de alfaces analisadas) em cada um dos grupos de tábuas. Para avaliar se a qualidade microbiológica das tábuas (classificadas apenas em 2 grupos: “S+A” e “NS”) teve influência nas contagens totais e nas

contagens de enterobactérias nas alfaces em exposição, recorreu-se ao teste não paramétrico de Wilcoxon-Mann-whitney, verificando-se que não existem diferenças significativas nas contagens nos 2 grupos (tabelas 27 e 28).

Tabela 26-Frequências absolutas de acordo com os grupos de classificação das tábuas

Classificação	n
Satisfatório	7
Aceitável	2
Não Satisfatório	19

Tabela 27-Wilcoxon rank sum test with continuity correction– comparação das CT em função da qualidade microbiológica das tábuas (2 grupos: “S+A” e “NS”)

Test statistic	P value	Alternative hypothesis
77.5	0.7121	two.sided

Tabela 28-Wilcoxon rank sum test with continuity correction–comparação das contagens de enterobactérias em função da qualidade microbiológica das tábuas (2 grupos: “S+A” e “NS”)

Test statistic	P value	Alternative hypothesis
78.5	0.7491	two.sided

3.6.6. Comparação das contagens totais a 30°C e contagens de Enterobactérias nas alfaces em exposição (exp) em função da classificação do recipiente (conforme e não conforme)

A tabela 29 representa o número de observações (número de alfaces analisadas) por grupo de recipiente (correto/incorrecto). Para avaliar se a utilização do recipiente incorreto teve influência nas contagens totais e nas contagens de enterobactérias nas alfaces em exposição, recorreu-se ao teste não paramétrico de Wilcoxon-Mann-whitney. Considerando para um nível de significância de 5%, não se observaram diferenças significativas nas contagens nos 2 grupos (tabelas 30 e 31).

Tabela 29-Nº de alfaces exp de acordo com o recipiente

Recipiente	n
Correto	17
Incorreto	11

Tabela 30-Wilcoxon rank sum test with continuity correction– comparação das CT em função do recipiente (correto/incorrecto)

Test statistic	P value	Alternative hypothesis
112.5	<i>0.3841</i>	two.sided

Tabela 31-Wilcoxon rank sum test with continuity correction– comparação das contagens de enterobactérias em função do recipiente (correto/incorrecto)

Test statistic	P value	Alternative hypothesis
132	<i>0.07381</i>	two.sided

3.6.7. Comparação das contagens totais a 30°C e contagens de Enterobactérias nas alfaces em exposição (exp) em função da temperatura de exposição (conforme e não conforme).

A tabela 32 representa o número de observações (número de alfaces analisadas) por grupos de classificação da temperatura de exposição. Para avaliar se a temperatura de exposição teve influência nas contagens totais e nas contagens de enterobactérias nas alfaces em exposição, recorreu-se ao teste não paramétrico de Wilcoxon-Mann-whitney. Através dos resultados obtidos, para um nível de significância de 5%, não se conclui que existam diferenças significativas nas contagens nos 2 grupos (tabelas 33 e 34).

Tabela 32-Nº de alfaces exp de acordo com o recipiente

Temperatura de Exposição	n
Correta	17
Incorreta	8

Tabela 33-Wilcoxon rank sum test with continuity correction–comparação das CT em função da temperature de exposição

Test statistic	P value	Alternative hypothesis
92	<i>0.1747</i>	two.sided

Tabela 34-Wilcoxon rank sum test with continuity correction– comparação das contagens de enterobactérias em função da temperature de exposição

Test statistic	P value	Alternative hypothesis
95.5	<i>0.1157</i>	two.sided

Discussão

Através da revisão da literatura ficou demonstrado, que os surtos associados ao consumo de vegetais crus são uma realidade no contexto atual, situação agravada nos grupos de risco como é o caso deste público alvo, os aposentados. Assim na avaliação da preparação de saladas em refeitórios públicos, ficou demonstrado que manipuladores, equipamentos, e utensílios, nomeadamente, os pré-requisitos e o HACCP não são mantidos e controlados de forma eficaz a jusante e a montante do processo de LDL, independentemente de outros fatores de risco.

Nas infraestruturas verificou-se que a maioria dos refeitórios (92,9%) possuem zonas de preparação de alimentos separadas, e cubas específicas para a LDL, reconhecendo ser de extrema importância na prevenção de contaminações cruzadas, a existência de diferentes sectores, nomeadamente, carne, peixe e legumes. As cozinhas com zonas específicas para cada tarefa evitam contaminações cruzadas, entre produtos de origem animal e produtos de origem vegetal (Batista *et al.*, 2003).

No que respeita aos lavatórios para a lavagem das mãos verifica-se que o maior incumprimento se relaciona com a inexistência de desinfetante (46,4%), papel (39,3%), e detergente (35,7%), no entanto, 14,3% dos refeitórios não possuíam nenhum dos requisitos atrás referidos, imprescindíveis na redução da flora microbiana das mãos. Neste sentido podemos afirmar que a higiene das mãos dos manipuladores pode estar comprometida.

Esta situação é também corroborada por Abreu (2013) que observou a incorreta lavagem das mãos, pelos manipuladores dada a inexistência de detergente. Outro estudo menciona a pouca importância dada à secagem das mãos, conforme menciona Jumaa, (2005), e outros há que não as lavam durante o processo, com a agravante da alternância entre tarefas.

Almeida *et al.*, (1995), efetuou um estudo microbiológico sobre a carga microbiana nas mãos de manipuladores de alimentos, tendo observado, contagens de microrganismos aeróbios mesófilos e anaeróbios facultativos, em níveis de até, 10^7 ufc/mão, contaminações por *S. aureus* e *C. Perfringens*. Os mesmos autores chamam a atenção para a possível contaminação cruzada no corte em carne assada. As medidas corretivas para esta situação passaram pela lavagem das mãos dos manipuladores, com água corrente e sabonete líquido neutro, seguido de um antisséptico. As reduções observadas demonstraram a eficácia da lavagem das mãos evitando assim a propagação de microrganismos patogênicos.

Os manipuladores que preparam e manipulam alimentos devem garantir o cumprimento das BPH, como refere Kibret (2012) no seu estudo em que, afirma que, é fundamental a sensibilização constante dos mesmos para a lavagem das mãos. Assim sendo os operadores económicos devem ao mesmo tempo disponibilizar sinalética nos locais de lavagem das mãos, e fundamentalmente, do procedimento para apoio aos manipuladores. A não lavagem das mãos, bem como, a lavagem deficiente são fatores identificados como a causa de transmissão de agentes patogênicos, da mesma forma em que, um estudo do INSA, entre 2005-2006, refere

que, apenas uma pequena quantidade de manipuladores de alimentos (inferior a 10%) procedem a uma correta lavagem das mãos (Jumaa, 2005; INSA 2005-2006).

Neste sentido a disponibilização de lavatórios de comando não manual, com o abastecimento adequado de água quente e fria, além de ser considerado obrigatório, conforme regulamento 852/2004 de 29 de Abril, no Anexo II, Cap. I, nº 4., é essencial para o processo de LDL.

No que respeita aos armários de refrigeração onde são armazenadas as alfaces em natureza, observou-se que apresentam temperaturas incorretas (entre os 1,6°C e os 5°C) e uma higienização deficiente, em 78,6% e 50% das unidades. Estes equipamentos continham produtos de origem animal (como costeletas, bacalhau, alheiras, ovos, leite e maionese).

Em Portugal o INSA aconselha na sua lista de verificação (Amorim, 2006), que os legumes e frutos na armazenagem devem manter-se a temperaturas entre os 6°C e os 8°C. A higienização destes equipamentos é colmatada com o cumprimento rigoroso do plano de higienização (PH), e a separação entre produtos de diferentes origens nos equipamentos de frio para evitar contaminações cruzadas, e perfeitamente exequível. O armazenamento conjunto como podemos verificar entre produtos de origem animal e vegetal pode propiciar contaminações entre produtos como por exemplo dos ovos para os vegetais, que não sofrem qualquer processo térmico, com consequências graves (ASAE, 2014).

No que respeita aos expositores de saladas preparadas e expostas para consumo, observa-se que o maior incumprimento é também a temperatura, com 28,6% dos refeitórios, onde a alface têm valores acima dos 7°C.

O INSA recomenda \leq a 7°C, contudo a regulamentação de certos países europeus, sugere os legumes colocados na cadeia de frio, com seguintes temperaturas, França 0-4°C, Inglaterra $<$ a 8°C, enquanto que a Alemanha aconselha a $<6^{\circ}\text{C}$ (Tirpanalam *et al.*, 2011). Atendendo que existem países que aconselham temperaturas mais elevadas, consideramos pois, que o cumprimento seria diferente, o que desdramatiza um pouco os resultados obtidos. A armazenagem da alface no frio é um ponto-chave na preservação da segurança e qualidade destes produtos (Baur, 2005).

Os refeitórios quando armazenam a alface desinfetada, não têm, em quase metade das situações, tampa do recipiente ficando a alface desinfetada ao abrigo de qualquer possível contaminação cruzada. Os refeitórios que não possuem equipamentos refrigerados (35,7%) para a disponibilização de salada, constatamos que a mesma, é colocada à temperatura ambiente, em cima de uma bancada e desprotegida, sabendo que no verão as cozinhas atingem valores elevados de temperatura (Quintela, 2009), mesmo que por pouco tempo, entre a preparação e a exposição, reconhecemos ser uma boa prática, a possibilidade da salada ser empratada e armazenada no frio e fornecida mediante solicitação dos consumidores.

Um estudo sobre a influência da temperatura de armazenamento num entreposto, mostrou que a qualidade microbiológica deficiente observada em saladas de peito de frango com tomate cereja e combinação de alfaces, se devia à deficiente temperatura de armazenagem, reduzindo assim o tempo de vida útil do produto (Dinis, 2011).

No tocante aos utensílios, os maiores problemas verificam-se na higienização das facas e TC, com 53,6% e 50%, com vestígios de incrustações e sujidade. O local onde são arrumadas ou protegidas verifica um incumprimento na ordem dos 75% (facas) e 82,1% (TC). A utilização destes utensílios, da mesma forma, regista incumprimentos de 64,3% e 25%. Concomitantemente as TC registam outros incumprimentos como o procedimento de higienização, os registos e a secagem. Há ainda evidências de fendas visíveis nas TC, que dificultam as operações de limpeza, originando eventuais contaminações cruzadas.

Também é evidente que existe um maior cumprimento na utilização da tábua de corte, com a cor correta (75%), inversamente à utilização das facas onde o cumprimento é significativamente menor (35,7%). O incumprimento na higienização dos utensílios é novamente solucionado com o cumprimento rigoroso do PH. Para além das evidências, sabemos que, quando a limpeza e desinfeção são inadequadas maior é a probabilidade de ocorrência de contaminações cruzadas (Martinez-Tomé *et al.*, 2000). A WHO recomenda a separação de produtos crus e cozinhados em diferentes tábuas de corte evitando contaminações cruzadas e possíveis transferências de microorganismos patogénicos.

Neste estudo observámos, um incumprimento de 64,3% na utilização das facas por códigos de cor, pelos manipuladores, em detrimento de outro estudo feito em Portugal, onde existia perfeita noção das BPH, confirmado pela necessidade de lavar ou mudar de faca na manipulação de alimentos crus de diferentes origens (Gomes-Neves *et al.*, 2007).

Em artigos recentes e em concordância com este estudo foi observado um incumprimento de 60% em relação às TC, mesmo sabendo que outros estudos existem em que revelam a importância da prevenção das contaminações cruzadas, nomeadamente com a utilização de utensílios separados por códigos de cores, (Bernardino, 2011; Green *et al.*, 2005).

Estão também identificados fatores de sucesso, como podemos constatar com valores quase totais de cumprimento dos manipuladores, que efetuam o processo de LDL, no que toca ao fardamento, correto, uso de touca, à inexistência de adornos e unhas aparadas, inversamente ao estudo efetuado no Brasil em 2012, que revelou que 50% dos colaboradores usavam adornos (Alves, 2012).

A legislação obriga a restauração à implementação de um sistema de segurança alimentar, designadamente o HACCP, no entanto verificamos que existem refeitórios que não possuem plano HACCP, assim, como há, os que têm planos “tipo” com indicações generalistas e em alguns casos, com indicações que não correspondem à especificidade do refeitório em

questão. Observamos também que nenhum refeitório efetua controlo microbiológico das alfaces.

De qualquer forma as empresas nos refeitórios efetuam a amostra testemunha colhida à refeição completa (prato de carne ou peixe com salada). Ora a recolha da amostra testemunha permite uma representação de um conjunto de refeições, produzidas ao mesmo tempo e sob as mesmas condições (Amorim, 2006). No entanto, em caso de suspeita da ocorrência de um surto de toxinfecção alimentar, a análise da amostra testemunha facilita a identificação do agente patogénico responsável, e a investigação da toxinfecção alimentar, com, a identificação e aplicação de medidas, prevenindo ocorrências similares, no futuro. Este pequeno hábito torna-se uma mais-valia para a identificação de possíveis fontes em casos de toxinfecções alimentares, pois pode salvaguardar o estabelecimento se, quando necessário, a amostra testemunha for analisada e mostrar que este se encontra conforme.

Acresce além do exposto que, as empresa de restauração não fazem controlo microbiológico às alfaces, no entanto os SSAP realizam controlo analítico às refeições, como mencionamos nas perguntas de partida, onde identificámos um número considerável de resultados não satisfatórios, nas análises microbiológicas dos alimentos em que, pode ficar a dever-se à junção das saladas com o prato de carne ou peixe. Este histórico permite-nos identificar as possíveis causas, contudo, e pelo fato de serem analisados produtos crus e confeccionados conjuntamente, não nos permite identificar a proveniência dos resultados não satisfatórios, ou seja, especificamente qual dos produtos efetivamente contribuiu para esse resultado final, inviabilizando a implementação de ações corretivas.

Constituindo o processo de LDL, o focus deste trabalho, inserido no plano HACCP começamos por observar, que o mesmo inicia-se com a visualização do procedimento afixado para aferir as quantidades e tipos de produto a desinfetar e as respetivas dosagens de cloro, água e tempo necessários. Assim 46,4% dos refeitórios possui o procedimento, contudo próximo da metade não têm afixado no local onde se procede à desinfecção de frutas e legumes. No início do processo a sequência das operações, como a triagem, corte do talo e pré-lavagem, são maioritariamente cumpridas, mesmo sem ter afixado o respetivo procedimento.

Observamos também, que existem refeitórios que não procedem à triagem da alface, não retiram o talo passando de imediato à desinfecção e não procedem à pré-lavagem. Constatamos que esta fase é a que regista o maior incumprimento (32,1%), influenciando os resultados microbiológicos não satisfatórios nas alfaces em 21,4% refeitórios, acrescido do fato de 7,1% estarem satisfatórios, contudo tinham sido doseados com cloro em excesso. A pré-lavagem eficaz retira em grande parte detritos e matéria orgânica das alfaces maximizando, a eficácia do cloro como desinfetante na fase a montante (Gil *et al.*, 2009). Nenhum refeitório agita as folhas de alface na água durante a pré-lavagem para ajudar a retirar sujidade e/ou qualquer perigo físico.

No doseamento da água, cloro e na contagem do tempo de contato a maioria dos refeitório não consegue corresponder às instruções de trabalho definidas pelas departamentos de Qualidade. As dosagens da água são incorretas mesmo com as manipuladoras a procurar soluções, como uma marca na cuba. A existência de um balde medidor com escala de litros garantia um doseamento correto, evitando situações de sobredosagens (desde 1 litro até aos 55 litros).

No que respeita à utilização do desinfetante e conforme demonstra o gráfico 2, verifica-se que a maioria utiliza cloro, contudo há refeitórios a utilizar somente vinagre para desinfetar as saladas. Os refeitórios que utilizam unicamente vinagre tiveram dois resultados microbiológicos, não satisfatórios, e um resultado satisfatório. Como explicação plausível, podemos referir que em ambas as análises não satisfatórias, verificaram-se as seguintes evidências, mistura de outros vegetais na desinfecção e a insuficiente imersão da alface, enquanto que na análise satisfatória cumprem em ambos os requisitos mencionados, com o fato acrescido do vinagre estar com uma sobredosagem (150 ml em vez de 40 mm). Figueiredo (2013) concluiu que adicionando ao cloro, vinagre (na concentração de 0,5%), potencia a ação do cloro mas altera as características organoléticas da alface.

Os refeitórios utilizam na maioria cloro líquido (68%) e numa pequena percentagem utilizam pastilhas (21%). Verifica-se um decréscimo da utilização das pastilhas para evitar utilizações incorretas, como a diluição incompleta da pastilha com resíduos, que em excesso podem causar queimaduras no ato da sua ingestão. A preocupação vai mais longe, com a utilização destes produtos químicos, tanto o cloro líquido como em pastilha porque quando utilizado em excesso é carcinogénico (Sapers, 2001), daí a proibição em alguns países europeus. Nesse sentido, notamos que esta indústria têm demonstrado interesse, noutras formas de desinfetar vegetais, Generally Recognized as Safe (GRAS), como os ácidos orgânicos e os extratos de plantas (Rico et al., 2007; Tripanalam et al., 2011; FDA, 2014).

Em 35,7% dos refeitórios verificamos uma sobredosagem do cloro utilizado. Assim podemos concluir que com a disponibilização de um medidor até 120 ml pode reduzir significativamente este incumprimento. Casteel et al., (2008) defende que o tempo e a solução desinfetante são fundamentais para a obtenção eficaz do resultado final. Contudo observamos que em 35,7% refeitórios a desinfecção das alfaces possuía uma subdosagem de cloro e um défice de tempo, originando 25% resultados não satisfatórios. Ao mesmo tempo observamos que em 32,1% refeitórios a desinfecção das alfaces possuía uma sobredosagem de cloro e um défice de tempo de contato, originando 17,8% resultados satisfatórios.

No que respeita ao tempo de contato, verifica-se que existe uma baixa percentagem na utilização correta do mesmo, no entanto a maioria dos casos têm utilização excessiva e em casos pontuais verifica-se um défice de tempo de contato do produto desinfetante e a alface. Nestes últimos casos o tempo de contato nomeadamente, em défice, têm influência no sucesso do

resultado final devido ao incumprimento do procedimento estipulado pelas empresas. Os manipuladores revelam pouca importância ao tempo, pois raramente verificam a que horas inicia o procedimento. A utilização de um relógio com temporizador e toque no final da contagem levaria a uma redução deste incumprimento. A correta contagem do tempo de aplicação, como a temperatura da água, como do meio ambiente pode exercer efeitos na redução microbiana (Ann, 2008). Por conseguinte verifica-se que nenhum refeitório efetua um controlo das operações de LDL, nomeadamente da água, do cloro e do tempo.

Depois das operações iniciais e das dosagens analisadas nas três variantes do processo, verificamos que o procedimento habitual é primeiro desinfetar as folhas de alface e posteriormente efetuar o corte, contrariamente ao procedimento em 14,3% dos refeitórios que, primeiro cortam as folhas da alface e de seguida desinfetam-na, contrariando as indicações de Luo *et al.*, (2010) em que menciona a alface depois de cortada liberta grandes quantidades de matéria orgânica neutralizando a ação do cloro, justificando que a desinfecção da alface deve manter-se antes do corte em pedaços, igualando os restantes refeitórios.

De seguida, verificamos que existem refeitórios que incumprem na imersão incompleta da alface, bem como misturam outro tipo de vegetais no processo da desinfecção (conforme figura 42 e 44), depois de colocar a solução desinfetante as manipuladoras não imergem a alface por completo, até ao fundo da cuba para garantir contato total da alface com a solução desinfetante. Por outro lado também se verifica uma mistura à alface de outros vegetais, como o tomate e a cenoura. As empresas nos seus manuais e instruções de trabalho mencionam que por cada alimento deve ser preparada uma nova solução desinfetante. A mistura da alface com outros vegetais, como o tomate e a cenoura, produtos com contagens normalmente mais elevados, prejudica a sua desinfecção (Abadias *et al.*, 2006).

Nesta fase, depois da alface estar desinfetada o contato existente com a mãos é um ponto importante a ter em conta, por isso verificamos que a maioria dos manipuladores não efetua lavagem das mãos, agravando-se esta situação com as mudanças de tarefas com a manipulação de produtos de diferentes natureza. Concluída a desinfecção das alfaces, as fases posteriores revestem-se de particular importância dado o tratamento químico estar concluído e as possíveis contaminações possam ser introduzidas no processo.

Assim, verificamos que as mãos dos manipuladores são um enfoque importante a ter em conta devido a recontaminações e ou contaminações cruzadas levando a que todo o esforço despendido na LDL, possa ser em vão. (Todd, D. *et al.*, 2010). Um estudo realizado por Alves (2012) no Brasil, revelou que a higienização das mãos ocorre com uma baixa frequência de 8%. Outro estudo de Veiros *et al.*, (2009) refere que os tópicos que tiveram as piores classificações na segurança alimentar em cantinas portuguesas foram, igualmente os manipuladores de alimentos, na preparação e distribuição, as áreas de limpeza e o controle de qualidade.

O enxaguamento da alface é cumprido na maioria dos refeitórios sabendo que os manipuladores têm a perfeita noção que para proceder a uma redução do produto desinfetante somente com a utilização de água (Gil *et al.*, 2009).

Os executantes da LDL na sua maioria não têm formação específica no processo, da mesma forma que os registos do procedimento não são efetuados ou quando são, estão incorretos. Tal fato, pode se constatar na figura 46 (registo de LDL) onde demonstra como os manipuladores encaram os registos. A forma como obtém a ilusão do controlo é evidente. Os manipuladores efetuam os registos de lavagem e desinfecção de frutas e legumes, no entanto, não mencionam qual ou quais os produtos desinfetados tanto nas saladas, como nos legumes e frutos.

A formação é importante no apoio aos manipuladores, para que não utilizem práticas impróprias na preparação de alimentos, dificultando assim, as doenças de origem alimentar, bem como, na perceção e implementação da metodologia HACCP como sistema de segurança alimentar (Laura, 2005; Bas *et al.*, 2005). Também Acikel *et al.* (2008), demonstrou que a formação tem uma influência positiva na higiene dos manipuladores, da mesma forma que Soon (2012), concluiu que conhecimentos adquiridos na formação, são fundamentais para melhorar o conhecimento da segurança alimentar dos manipuladores.

No plano HACCP identificámos os perigos associados ao processo de LDL, cabendo-nos agora um enquadramento para a respetiva ação corretiva (Novais, 2006). Assim sendo, as empresas de restauração, quando definem e aplicam esta metodologia ao processo das frutas e legumes crus não são consensuais, designadamente, na identificação de perigos neste processo. Ou seja, identificam a LDL, como um ponto de controlo crítico (PCC), outras consideram um programa de pré-requisito operacional (PPRO), e há quem considere um programa de pré-requisito (PPR). Os pré-requisitos para a implementação da metodologia HACCP, são os que controlam a probabilidade de introdução de perigos para a segurança dos alimentos na sua envolvente (ISO 22000, 2005).

Os PPR operacionais são um dos resultados da selecção e avaliação das medidas de controlo, de acordo com a metodologia HACCP, assim como os PCC. Na selecção e avaliação das medidas de controlo devem ser definidas as etapas e as medidas de controlo onde vão ser controlados os perigos relevantes para garantir a segurança alimentar. Se as etapas e as medidas de controlo forem geridas pelo plano HACCP consideram-se PCC, se forem geridas pelos PPR operacionais são considerados programas (ISO 22000, 2005). Um estudo de Figueiredo (2013), conclui que para a restauração coletiva, também existia muita dificuldade na sua aplicação dos procedimentos baseados nos princípios HACCP, para o consumo da alface em cru, dada a flexibilidade dos requisitos permitir a sua aplicação em todas as situações.

Assim e dadas as evidências no desenvolvimento do processo de LDL, em que as empresas não conseguem garantir a monitorização do perigo identificado, propõe-se que, para o

processo ser cumprido na íntegra, designadamente as fases iniciais de triagem, corte do talo, e pré-lavagem podem ser consideradas um PPRO, obrigando a um registo de cumprimento das etapas pelos manipuladores, enquanto que a desinfecção da alface deve ser considerado um PCC, pelos incumprimentos já referidos essencialmente nas dosagens do cloro.

Na avaliação da qualidade microbiológica das superfícies de contato é de realçar os 67,9% de resultados não satisfatórios que podem originar contaminações cruzadas no corte das alfaces pós desinfecção, aumentando assim, estes resultados e corroborando outros estudos (Guimarães *et al.*, 2013; Walker *et al.*, 1997). Durante este trabalho verificámos como já foi atrás referenciado, que as manipuladoras não procediam à higienização das TC conforme plano de higienização, não efetuavam registos da sua limpeza, bem como, não efetuavam a secagem acrescentando o fato de no local de armazenamento as mesmas se encontrarem desprotegidas, propiciando possíveis contaminações.

Os resultados das CT, nas TC foram considerados não satisfatórios, em 64,3% das superfícies com valores entre 31 a 1750 ufc/cm², confirmando o estudo de Guimarães *et al.*, (2013) em que as TC continham também valores não satisfatórios em mais de metade das mesmas. Relativamente aos resultados das Enterobactérias, nas TC foram considerados não satisfatórios em 35,7%, com valores entre 3 e 276 ufc/cm². Estes resultados são inferiores aos verificados no estudo anterior, ainda assim diferentes dos valores e conclusões a que chegaram Mesquita e colaboradores em (2006) em que referem ausência de coliformes.

De acordo com a avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a consumir preparados em estabelecimentos de restauração coletiva, com base nos valores guia (Santos *et al.*, 2005) verifica-se que as alfaces em exposição apresentavam os seguintes resultados não satisfatórios, nas CT 32,1%, nas Enterobactérias 42,9% e nas *E. Coli* ausência de contagens. Estes resultados são considerados ainda elevados nestes estabelecimentos atendendo ao contexto, designadamente para este tipo de produtos prontos a consumir e para um público alvo considerado de risco.

Apesar de terem sido detetadas várias falhas no processo de LDL, observaram-se reduções importantes nas contagens, quando se comparam as alfaces em nat e exp. Comparando as CT das alfaces em nat e exp observaram-se reduções de pelo menos 1 log em 68% das amostras, sendo de 2 log ou mais em 32% delas. No que respeita às Enterobactérias verificaram-se reduções de pelo menos 1 log em 71% das amostras, atingindo os 2 log em 21% delas. Nas amostras com contagens de *E. Coli* verificou-se uma redução de pelo menos 1 log em 93% dos refeitórios. Wu (2000), Sapers (2001) e Nou (2010) referem que a utilização de cloro na desinfecção de vegetais diminui a carga microbiana entre 1 a 2 log. Os resultados obtidos neste trabalho, mostram reduções de 1 a 2 log para CT, Enterobactérias e *E. coli* apenas em 68%, 71% e 93% das amostras, respetivamente, o que revela deficiências no processo de LD.

Nas comparações em Nat e Pd, das CT e das *Enterobacteriaceae*, podemos observar através da análise gráfica uma redução considerável na fase pós desinfecção. Salientando o fato que na fase Pd e exp confirmamos uma ligeira subida dos valores com uma possível recontaminação no processo sendo sabido que inúmeras variáveis têm repercussões no resultado final.

Nas comparações das contagens totais a 30°C e contagens de Enterobactérias nas alfaces em exposição em função da classificação das tábuas quanto a conservação, higiene e utilização, não se observaram diferenças significativas (com exceção das contagens de enterobactérias em função da utilização correta vs. incorreta das TC). Também não se observaram diferenças significativas nas contagens totais a 30°C e contagens de enterobactérias das alfaces cortadas em tábuas classificadas como não satisfatórias comparativamente às cortadas em tábuas classificadas como satisfatórias ou aceitáveis quanto à sua qualidade microbiológica. As comparações das contagens totais a 30°C e contagens de Enterobactérias nas alfaces em exposição em função da classificação do recipiente e em função da temperatura de exposição também não revelaram diferenças significativas.

Os novos métodos de desinfecção que vão desde os desinfetantes naturais aos físicos deixando os desinfetantes químicos, como o cloro, em alguns países, fora das suas fronteiras leva-nos a dizer que no futuro outros produtos até podem ultrapassar esta solução química mas neste momento ainda é muito cedo para dizer que se encontra em declínio a sua utilização para uso na restauração coletiva (como mais barata e eficaz).

O presente estudo levanta como possíveis hipóteses de futuras investigações, em primeiro lugar, um estudo idêntico a este com indicações anteriores ao processo de LDL, como a sensibilização dos manipuladores com uma formação específica e posterior análise microbiológica para aferir se os níveis de conhecimento têm influência direta nos resultados finais. Em segundo lugar seria pertinente saber quais os efeitos da sobredosagem do cloro nas alfaces e posterior ingestão pelo consumidor final, bem como nos manipuladores que diariamente procedem a este tipo de tarefas sem saber quais as suas repercussões na inalação dos voláteis do cloro em contato com a água. Por último a averiguação da fonte de contaminação destes alimentos, sendo importante realizar análises a utensílios e mãos dos manipuladores e relacionar a contaminação com o tempo e temperatura de armazenamento e de exposição.

Conclusão

O primeiro objetivo deste trabalho foi avaliar os fatores de risco na preparação das saladas prontas a consumir em refeitórios públicos. Conclui-se assim que o número de bactérias viáveis detetáveis nestes produtos e a sua redução significativa constitui uma vantagem para o processo de LDL.

Atendendo à qualidade geral destes produtos, após desinfeção constatámos um número muito elevado de amostras não satisfatórias, pelo que se aconselha à revisão do processo de LDL.

Por um lado está demonstrado as potenciais fontes de contaminação cruzada deste tipo de produtos, como os equipamentos e os manipuladores a eles associados.

Tornou-se evidente que a origem das amostras não satisfatórias ficou a dever-se em grande parte às alfaces, assim sendo nunca devem ser avaliados conjuntamente estes produtos por serem alimentos com perfil microbiológico específico contrariamente aos produtos que sofrem tratamento térmico.

No que respeita à LDL não é globalmente satisfatória na medida em que se observa a existência de falhas não só nas operações prévia, como também nas operações posteriores. As operações prévias à LDL como a triagem, o corte e a pré lavagem apresentam níveis de incumprimento que podem comprometer a desinfeção das alfaces. As concentrações de água, cloro e o tempo de contato foram somente cumpridas em um refeitório pelo que a eficácia nesta fase está comprometida.

Os pré-requisitos do sistema HACCP têm de ser realistas e cumpridos para que no caso específico, da higienização das TC, não comprometam a LDL no cruzamento entre a alface e a superfície de contato.

Considerando que os SSAP têm no seu público alvo grupos de risco como são os aposentados na maioria das refeições fornecidas nos seus refeitórios, entendemos que deverá ser feita uma aposta maior, destas empresas na formação, devendo ser reforçadas as instruções de trabalho corretamente definidas e amplamente divulgadas.

Dadas as falhas e as contagens finais observadas este deve ser considerado um PCC, definido de forma adequada e realista, como as operações prévias deverão constituir um PPRO.

É recomendável a continuação de mais estudos para conhecer melhor a realidade destas empresas, visto existir uma grande variedade de procedimentos definidos, sendo que, seria interessante repetir o estudo e tentar evidenciar, se com outras empresas as observações se mantêm, são alteradas ou são meramente circunstanciais.

Bibliografía

- Abadias, M., Usall, J., Anguera, M., Solsona, C., Viñas, I. (2008). Microbiological quality of fresh, minimally-processes fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *International Journal of Food Microbiology*, 123, 121-129.
- Abreu, N. (2013). Fatores de Risco nos Processos de Higienização das Mãos em Restauração. *Escola Superior de Hotelaria e Turismo do Estoril*.
- Acikel, C. H., R. Ogur, H. Yaren, E. Gocgeldi, M. Ucar, and T. Kir. (2008). The hygiene training of food handlers at a teaching hospital. *Food Control* 19:186–190.
- Ackers, M.L., Mahon, B.E., Leahy, E., Goode, B., Damrow, T., Hayes, P.S., et al. (1998). An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with leaf lettuce consumption. *J Infect Dis* 177: 1588–1593.
- Adams, M. R. & Moss, M. O. (2000). *Food microbiology*. (2nd ed.). Great Britain: Royal Society of Chemistry.
- Al-Dagal, M., Mo, O., Fung, D., & Kastner, C. (1992). A case study of the influence of microbial quality of air on product shelf life in a meat processing plant. *Journal of Dairy Food and Environment Sanitation*, 12, pp. 69-70.
- Almeida, R., Kuaye, A., Serrano, A., Almeida, P. (1995). Avaliação e controle da qualidade microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos. *Rev Saúde Pública*, 29 (4). 290-94, 1995
- Alves, E., Giaretta, A., Costa, F. (2012). Higiene pessoal dos manipuladores de alimentos dos shoppings centers da Região da Grande Florianópolis. *Rev. Técnico Científica (IFSC)*, v.3, n.1.
- Amorim, J. (2006). *Lista de Verificação de Higiene Alimentar na Restauração Colectiva*. Instituto Nacional de Saúde.
- Anderson, M. R. P. & Pascual, V. C. (2000). *Microbiologia alimentaria: Metodologia analítica para alimentos y bebidas* (2a Ed.). Ediciones Diaz de Santos.
- Ann, A. (2008). Benefits and risks of the use of chlorine-containing disinfectants in food production and food processing: report of a WHO/FAO expert meeting. MI, USA, Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization.
- ASAE (2012). *Perfil de Risco dos Principais Alimentos Consumidos em Portugal*. Direção de Avaliação e Comunicação de Risco. Ministério da Economia e da Inovação.
- ASAE (2014). Surto de salmonelose associado ao consumo de ovos provenientes da Alemanha. Pareceres científicos. Disponível em: <http://www.asae.pt/?cr=16033>. Acedido a 1 Outubro 2015.

- Batista, P., Saraiva J. (2003). Higiene Pessoal na Industria Alimentar. 1a Ed. Forvisão – Consultadoria em Formação Integrada, Lda., Guimarães. Portugal, 46 p.
- Bas, M., Yuksel, M., Çavusoglu, T. (2005). Difficulties and barriers for the implementing of HACCP and food safety systems in food businesses in Turkey. *Food Control*, 18, 124-130.
- Baur S. (2005). Quality improvement and shelf-life extension of minimally processed iceberg lettuce by innovative pre-washing using cold and warm water or without sanitizers. Shaker Verlag, Aachen, Germany.
- Bento, A., Martins, A., Cordeiro, T. (2009). Intervenção Farmacêutica no Idoso – Guia Prático Volume II – Nutrição e o Idoso. 1ª Edição. Associação Nacional das Farmácias. Página 5-18.
- Bernardino, F. (2011). Factores de Risco no Serviço Domiciliário de Refeições. Escola Superior de Hotelaria e Turismo do Estoril.
- Besser, R.E., Lett, S.M., Weber, J.T., Doyle, M.P., Barrett, T.J., Wells, J.G., and Griffin, P.M. (1993). An outbreak of diarrhea and hemolytic uremic syndrome from *Escherichia coli* O157:H7 in fresh-pressed apple cider. *JAMA* 269: 2217–2220.
- Biokar Diagnostics (12 de Janeiro de 2010). Catalogue. Salabia Diagnostics. Disponível em: http://www.biokar.diagnostics.com/solabia/solabiadiagnostique.nsf/V5_OPM/4B41E68777E5B70AC125748E004A611F?OpenDocument. Acedido em Novembro de 2014.
- Bofill, N. R., Herranz, M. B. & Villavecchia, A. M. M. (2006). Anàlisi microbiològica i higiene dels aliments. Barcelona: Edicions Universitat Barcelona.
- Breuer, T., Benkel, D.H., Shapiro, R.L., Hall, W.N., Winnett, M.M., Linn, M.J., et al. (2001). A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections linked to alfalfa sprouts grown from contaminated seeds. *Emerg Infect Dis* 7: 977–982.
- Buck, J.W., Walcott, R. R., Beuchat, L. R. (2003). Recent trends in microbiological safety of fruits and vegetables. *Plant Health Progress*.
- Cardoso, A. L. S. P., Tessari, E. N. C., Castro, A. G. M. & Kanashiro, A. M. I. (1999). Pesquisa de *Salmonella* spp., coliformes totais, coliformes fecais e mesófilos em carcaças e produtos derivados de frango. Disponível em: http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/V67_1/pesquisa_salmonella.htm. Acedido em Junho 8, 2008.
- Casteel, M. J., Schmidt, C. E., Sobsey, M. D. (2008). Chlorine disinfection of produce to inactivate Hepatitis A virus and Coliphage MS2. *International Journal of Food Microbiology*, 125, 267-73.

- CDC (2002). Outbreak of Salmonella serotype Kottbus infections associated with eating alfalfa sprouts – Arizona, California, Colorado, and New Mexico, February–April 2001. M.M.W.R. Morb Mortal Wkly Rep 51: 7–9.
- CDC (2006). Ongoing multistate outbreak of Escherichia coli serotype O157:H7 infections associated with consumption of fresh spinach – United States, September 2006. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 55: 1045–1046.
- CDC (2008). Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities. Disponível em: http://www.cdc.gov/hicpac/Disinfection_Sterilization/table_2.html. Acedido a 4 Maio 2015.
- CDC (2012). Emerging Infectious Diseases. ISSN: 1080-6059. Disponível em: http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/5/5/99-0502_article. Acedido em 13 Fevereiro de 2015.
- CDC (2012). Multistate outbreak of E. coli O157:H7 infections linked to Romaine lettuce. Disponível em: <http://www.cdc.gov/ecoli/2011/ecoliO157/romainelettuce/032312/index.html>. Acedido a 8 Fevereiro 2015.
- Cook, K.A., Dobbs, T.E., Hlady, W.G., Wells, J.G., Barrett, T.J., Puhr, N.D., et al. (1998). Outbreak of Salmonella serotype Hartford infections associated with unpasteurized orange juice. JAMA 280: 1504–1509.
- Correia, C.B., Cunha, I.C., Coelho, A.S., Maia, C., Pena, C., Bonito C.C., Sousa, I., Toscano, M.M., Furtado, R., Santos, S.D., Viegas, S., Lopes, T.T., Saraiva, M., Calhau, M.A. (2008-2011). Investigação Laboratorial de Toxinfeções Alimentares. Artigos breves nº 1. Observações Boletim Epidemiológico. INSA.
- Cotterelle, B., Drougard, C., Rolland, J., Becamel, M., Boudon, M., Pinede, S., et al. (2005) Outbreak of norovirus infection associated with the consumption of frozen raspberries, France, March 2005. Euro Surveill 10:E050428 050421.
- De Roever, C. (1998). Microbiological safety evaluations and recommendations on fresh produce. Food Control 9 (6):321-347.
- Dentinger, C.M., Bower, W.A., Nainan, O.V., Cotter, S.M., Myers, G., Dubusky, L.M., et al. (2001). An outbreak of hepatitis A associated with green onions. J Infect Dis 183: 1273–1276.
- DGS (2005). Princípios para uma Alimentação Saudável. Coleção Princípios para uma Alimentação Saudável. Policas.
- Dinis, A. (2011). Influência da temperatura de armazenamentonumentreposto em indicadores microbiológicos da segurança e da qualidade alimentar. Instituto Politécnico de Santarém, Escola Superior Agrária de Santarém.

- EFSA (2013). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2013. Disponível em: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/3129.pdf>. Acedido a 14 Maio 2015.
- EFSA (2011). Shiga toxin and verotoxin-producing *Escherichia coli* in humans, food and animals in the EU, with special reference to the German outbreak strain STEC O104. Disponível em: <http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/166e.htm>. Acedido a 15 Abril 2015.
- Emberland, K.E., Ethelberg, S., Kuusi, M., Vold, L., Jensvoll, L., Lindstedt, B.A. (2007). Outbreak of Salmonella Weltevreden infections in Norway, Denmark and Finland associated with alfalfa sprouts, July–October 2007. Euro Surveill 12: pii=3321.
- Empís, J., Martins, M. (2000). Produtos Hortofrutícolas Frescos ou Minimamente Processados, Refrigeração, Sociedade Portuguesa de Inovação, Porto.
- Erickson, M.C., and Doyle, M.P. (2007). Food as a vehicle for transmission of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. J Food Prot 70: 2426–2449.
- Ethelberg, S., Lysbi, M., Bottiger, B., Schultz, A., Vilif, A., (2010). Outbreaks of gastroenteritis linked to lettuce, Denmark, January. Eurosurveillance, 15, 2-4.
- FAO (2014). Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação. Disponível em: <https://www.fao.org.br/> Acesso em 29 Dez 2014.
- Falkenhorst, G., Krusell, L., Lisby, M., Madsen, S.B., Bottiger, B., and Molbak, K. (2005) Imported frozen raspberries cause a series of norovirus outbreaks in Denmark, 2005. Euro Surveill 10: E050922 050922.
- FDA (2014). Ingredients, Packaging & Labeling. Generally Recognized as Safe (GRAS). Food and Drug Administration, U.S. Department of Health & Human Services. Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/default.htm>. Acedido a 10 Maio 2015.
- Ferguson, D.D., Scheftel, J., Cronquist, A., Smith, K., Woo-Ming, A., Anderson, E., et al. (2005). Temporally distinct *Escherichia coli* O157 outbreaks associated with alfalfa sprouts linked to a common seed source – Colorado and Minnesota, 2003. Epidemiol Infect 133: 439–447.
- Ferry, M., Alix, E. (2002). A nutrição na pessoa idosa – Aspectos fundamentais, clínicos e psicossociais. 2ª Edição. Lusociência, Loures.

- Figueiredo, F.F. (2013). Desinfecção de alfaces por ação do cloro e do vinagre e desenvolvimento de um sistema de segurança para a alface em estabelecimentos de restauração coletiva. Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterenária.
- Forsythe, S. J. (2002). Microbiologia da Segurança Alimentar, Artmed Editora, Porto Alegre, pp.424.
- Fresco, J. P. (2004). Ingenieria, autocontrol y auditoria de la higiene en la industria alimentaria. Mundi-Prensa Libros.
- Friesema, I., Sigmundsdottir, G., van der Zwaluw, K., Heuvelink, A., Schimmer, B., de Jager, C., et al. (2008). An international outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 infection due to lettuce, September–October 2007. *Euro Surveill* 13: pii=19065.
- Gil M.I, Selma M.V, Lopez-Galvez F, Allende A. (2009). Fresh-cut product sanitation and wash water disinfection: problems and solutions. *International Journal of Food Safety*.134:37-45.
- Gomes-Neves, E., Araújo, A. C., Ramos, E. & Cardoso, C. S. (2007). Food handling: Comparative analysis of general knowledge and practice in three relevant groups in Portugal. *Food Control*, 18(6), 707-712.
- Goodburn, C., Wallace, C. A. (2013). The microbiological efficiacy of decontamination methodologies for fresh produce: a review. *Food Control* 32, pp. 418–427.
- GPP (2007). Horticultura. Gabinete de Planeamento e Políticas. Ministério da Agricultura do Desenvolvimento Rural e das Pescas.
- Green, L. R. & Selmam, C. (2005). Factors Impacting Food Workers' and Managers' Safe Food Preparation Practices: A Qualitative Study. *Food Protection Trends*, 25(12), 981- 990.
- Grant J., Wendelboe, A.M., Wendel, A., Jepson, B., Torres, P., Smelser, C., and Rolfs, R.T. (2008). Spinach-associated *Escherichia coli* O157:H7 outbreak, Utah and New Mexico, 2006. *Emerg Infect Dis* 14: 1633–1636.
- Guimarães, M., Castel-Branco, M., Brandão, C. (2013). Perigos microbiológicos em cozinha vegetariana estudo de Caso: restaurante de cozinha vegetariana. *Revista Portuguesa de Ciências Veterenárias. Escola Superior de Hotelaria e Turismo do Estoril. RPCV* (2013) 108 (585-586) 45-52.
- Harrigan, W., Maccance, M. (1998). *Laboratory Methods in Food Microbiology*, Academic Press Inc. Ltda, London.
- Hedberg, C. W., MacDonald, K. L., Osterholm, M. T. (1993). Foodborne Illness in the 1990s. *The Journal of the American Medical Association*, 21, 269.

- Herwaldt, B.L., Beach, M.J. (1997). The return of *Cyclospora* in 1997: another outbreak of cyclosporiasis in North America associated with imported raspberries. *Cyclospora Working Group. Ann Intern Med.* 1999 Feb 2;130(3):210–220.
- Herwaldt, B.L., Ackers, M.L. (1996). An outbreak in 1996 of cyclosporiasis associated with imported raspberries. The *Cyclospora Working Group. N Engl J Med.* 1997 May 29;336(22):1548–1556.
- Herwaldt, B.L. (2000) *Cyclospora Cayetanensis*: A review, focusing on the outbreaks of cyclosporiasis in 1990's. *Clin. Infect. Dis.*, 31:1040-57.
- Hjertqvist, M., Johansson, A., Svensson, N., Abom, P.E., Magnusson, C., Olsson, M., (2006). Four outbreaks of norovirus gastroenteritis after consuming raspberries, Sweden, June–August 2006. *Euro Surveill* 11: pii=3038.
- Hilborn, E.D., Mermin, J.H., Mshar, P.A., Hadler, J.L., Voetsch, A., Wojtkunski, C., et al. (1999). A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with consumption of mesclun lettuce. *Arch Intern Med* 159: 1758–1764.
- Ho, A.Y., Lopez, A.S., Eberhart, M.G., Levenson, R., FinKel, B. S. J. (2002). An Outbreak of cyclosporiasis associated with imported raspberries in Pennsylvania in 2000. *Emerg. Infect. Dis.*, 8:783-8.
- Honish, L., and Nguyen, Q. (2001). Outbreak of *Salmonella* Enteritidis phage type 913 gastroenteritis associated with mung bean sprouts – Edmonton, 2001. *Can Commun Dis Rep* 27: 151–156.
- Hutin, Y.J., Pool, V., Cramer, E.H., Nainan, O.V., Weth, J., Williams, I.T., et al. (1999). A multistate, foodborne outbreak of hepatitis A. National Hepatitis A Investigation Team. *N Engl J Med* 340: 595–602.
- INE (2012). *Estatísticas Agrícolas*. Instituto Nacional de Estatística. Edições 2013. ISSN 0079-4139.
- INSA (2005-2006) *Resultados da Avaliação das Condições de Higiene na Restauração Coletiva 2005-06*. Centro de Segurança Alimentar e Nutrição, Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge.
- ISO 22000 (2005). *Sistema de gestão da segurança alimentar. Requisitos para qualquer organização que opere na cadeia alimentar*. International Organization for Standardisation. Genebra.

- Issa-Zacharia, A., Kamitani, Y., Muhimbula, H. S., Ndabikunze, B. K. (2010). A review of microbiological safety of fruits and vegetables and the introduction of electrolyzed water as an alternative to sodium hypochlorite solution. *African Journal of Food Science*, 4, 778-789.
- Johnston, L. M., Jaykus, L., Moll, D., Martinez, M. C., Anciso, J., Mora, B., Moe, C. L. (2005). A field study of the microbiological quality of fresh produce. *Journal of Food Protection*, 68, 1840-1847.
- Jumaa, P. A. (2005) Hand hygiene: simple and complex. *International Journal of Infectious Diseases*, 9, 3-14.
- Kaneko, K., Hayashidani, H., Ohtomo, Y., Kosuge, J., Kato, M., Takahashi, K., Shiraki, Y., Ogawa, M. (1999). Bacterial Contamination of Ready-to-Eat Foods and Fresh Products in Retail Shops and Food Factories. *Journal of Food Protection*, Number 6, June 1999, pp. 567-697, pp. 644-649(6).
- Kibret, M., Abera, B. (2012). The sanitary conditions of food service establishments and food safety knowledge and practices of food handlers in Bahir Dar Town. *Ethiop J Health Sci.* Vol.22, No.1, March 2012.
- Kim, S. Y., Kang, D. H., Kim, J. K., Ha, J. Y., Kim, T., Lee, S. H. (2011). Antimicrobial activity of plant extracts against *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on Fresh lettuce. *Journal of Food Science*, 76, 41-46.
- Korsager, B., Hede, S., Boggild, H., Bottiger, B.E., and Molbak, K. (2005). Two outbreaks of norovirus infections associated with the consumption of imported frozen raspberries, Denmark, May–June 2005. *Euro Surveill* 10: pii=2729.
- Koumans, E.H., Katz, D.J., Malecki, J.M., Kumar, S., Wahlquist, S.P., Arrowood, M.J., Hightower, A.W., Herwaldt, B.L. (1995). An outbreak of cyclosporiasis in Florida in 1995: a harbinger of multistate outbreaks in 1996 and 1997. *Am J Trop Med Hyg.* 1998 Aug; 59 (2):235–242.
- Laura G., & Carol S. (2005). Factors Impacting Food Workers' and Managers' Safe Food Preparation Practices: A Qualitative Study, *Food Protection Trends*, Vol. 25, N°.12, Pages 981–990.
- Lou, Y., Nou, X., Yang, Y., Alegre, I., Turner, E., Feng, H., Abadias, M., Conway, W. (2010). Determination of free chlorine concentration needed to prevent *Escherichia coli* O157:H7 cross-contamination during fresh-cut produce wash. *Journal of Food Protection*, 74, 352-358.

- Mahon, B.E., Ponka, A., Hall, W.N., Komatsu, K., Dietrich, S.E., Siitonen, A., et al. (1997). An international outbreak of *Salmonella* infections caused by alfalfa sprouts grown from contaminated seeds. *J Infect Dis* 175: 876–882.
- Marchi, P. G. F. (2006). Estudo comparativo do estado de conservação de carne moída através de métodos microbiológicos e físico-químicos. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária. Jaboticabal – São Paulo: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista.
- Martinez-Tomé, M.; Vera, A. M. & Múrcia, M. A. (2000). Improving the control of food production in catering establishments with particular reference to the safety of salads. *Food Control*, 11(6), 437-445.
- Mesquita, M., Queiroga, R., Saccol, A., Milani, L., Fries, F. (2006). Qualidade Microbiológica no processamento do frango assado em unidade de alimentação e nutrição. *Cien Tecn Alim*, 26 (1), 198-203.
- Michino, H., Araki, K., Minami, S., Takaya, S., Sakai, N., Miyazaki, M., et al. (1999). Massive outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in schoolchildren in Sakai City, Japan, associated with consumption of white radish sprouts. *Am J Epidemiol* 150: 787–796.
- Mohle-Boetani, J.C., Farrar, J.A., Werner, S.B., Minassian, D., Bryant, R., Abbott, S., et al. (2001). *Escherichia coli* O157 and *Salmonella* infections associated with sprouts in California, 1996–1998. *Ann Intern Med* 135: 239–247.
- Mohle-Boetani, J.C., Farrar, J., Bradley, P., Barak, J.D., Miller, M., Mandrell, R., et al. (2009). *Salmonella* infections associated with mung bean sprouts: epidemiological and environmental investigations. *Epidemiol Infect* 137: 357–366.
- Moore, G. & Griffith, C. (2002). A comparison of surface sampling methods for detecting coliforms on food contact surfaces. *Food Microbiology*, 19, 65-73.
- Nou, X., Lou, Y. (2010). Whole-leaf wash improves chlorine efficacy for microbial reduction and prevents pathogens cross-contamination during fresh-cut lettuce processing. *Journal of Food Science*, 75, 283-290.
- Novais, M. R., Santos, M. I., Correia, C. B. (2004). Alguns aspetos relacionados com a segurança alimentar no concelho de Lisboa. *Revista Portuguesa De Saúde Pública*, 22 (1), 37-41.
- Novais, M.R. (2006). Noções Gerais de Higiene e Segurança Alimentar: Boas Práticas e Pré-Requisitos HACCP, *Segurança e Qualidade Alimentar*, 1, 10-11.

- Ölmez, H., Kretzchmar, U. (2009). Potential alternative disinfection methods for organic fresh-cut industry for minimizing water consumption and environmental impact. *LWT – Food Science and Technology*, 42, 686-693.
- OMS (2007). Food safety and foodborne illness. Disponível em: <http://www.OMS.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/>. Acedido a 21 de Dezembro de 2014
- Parish, M. E., Beuchat, L. R., Suslow, T. V., Harris, L. J., Garret, E. H., Farber, J. N., Busta, F. F. (2003). Methods to reduce/eliminate pathogens from fresh and fresh-cut produce. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2, 161-173.
- Proctor, M.E., Hamacher, M., Tortorello, M.L., Archer, J.R., and Davis, J.P. (2001). Multistate outbreak of *Salmonella* serovar Muenchen infections associated with alfalfa sprouts grown from seeds pretreated with calcium hypochlorite. *J. Clin Microbiol* 39: 3461–3465.
- Quintela, D., (2009). Condições de trabalho em cozinhas profissionais – Avaliar e melhorar”, Departamento de Engenharia Mecânica, Faculdade de Ciências e Tecnologias de Universidade de Coimbra.
- Reid, T.M., and Robinson, H.G. (1987). Frozen raspberries and hepatitis A. *Epidemiol Infect* 98: 109–112.
- Rico D, Martin-Diana A B, Barat J M, Barry-Ryan C.(2007). Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: A review. *Trends in Food Science & Technology*;18:373-386.
- Rosenblum, L.S., Mirkin, I.R., Allen, D.T., Safford, S., and Hadler, S.C. (1990). A multifocal outbreak of hepatitis A traced to commercially distributed lettuce. *Am J Public Health* 80: 1075–1079.
- Regulamento (CE) nº 852/2004 de 29 de Abril (2004) Regulamento (CE) N.º 852/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de Abril de 2004 relativo à higiene dos géneros alimentícios. *Jornal Oficial da União Europeia* no L 139/1, pp. 1-18.
- Rodrigues, S.S.P., Franchini, B., Graça, P., de Almeida, M.D.V. (2006). A new food guide for the Portuguese population: development and technical considerations. *J Nutr Educ Behav*. 2006; 38: 189-95.
- Salustiano, V., Andrade, N., Brandão, S., Azevedo, R., & Lima, S. (2003). Microbiological Air Quality of Processing areas in a Dairy Plant as Evaluated by the Sedimentation Technique and a One-Stage Air Sampler. *Brazilian Journal of Microbiology*, 34, pp. 255-259.
- Santos, M. I., Correia, C., Cunha, M. I., Saraiva, M. M., Novais, M. R. (2005). Valores Guia para a avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração. *Revista da Ordem dos Farmacêuticos*, 64, 66-69.

- Santos, I. & Cunha, I. (2007). Patogénicos emergentes em alimentos. *Segurança e Qualidade Alimentar*, 2, 10-13.
- Sapers, G. M. (2001). Efficacy of washing and sanitizing methods for disinfection of fresh fruit and vegetable products. *Food Technology and Biotechnology*, 39, 305-311.
- SCF (2002). Risk Profile on the Microbiological Contamination of Fruits and Vegetables Eaten Raw (Report of the Scientific committee on Food). http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out125_en.pdf. Acedido a 26 Maio 2015.
- Shahnazi, M., Jafari-Sabet M. (2010). Prevalence of parasitic contamination of raw vegetables in villages of Qazvin Province, Iran. *Foodborne Pathog Dis*. Sep;7(9):1025-30.
- Sivapalasingam, S., Friedman, C.R., Cohen, L., and Tauxe, R.V. (2004) Fresh produce: a growing cause of outbreaks of foodborne illness in the United States, 1973 through 1997. *Journal of Food Protection*, 67: 2342–2353.
- Soderstrom, A., Osterberg, P., Lindqvist, A., Jonsson, B., Lindberg, A., Blide Ulander, S., et al. (2008). A large *Escherichia coli* O157 outbreak in Sweden associated with locally produced lettuce. *Foodborne Pathog Dis* 5: 339–349.
- Soon, J. M., Baines, R. N. (2012). Food safety training and evaluation of handwashing intention among fresh produce farm workers. *Food Control*, 23, 437-448.
- Souza, C. A. S., Avancini, C. A. M., Wiest, J. M. (2000). Atividade antimicrobiana de *Tagetes minuta* L., *Compositae* (chinchilho) frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. *Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science*, v. 37, n. 6, p. 1-9, December.
- SSAP (2013). Relatório dos Inquéritos de Satisfação aos Utentes nos Refeitórios. Serviços Sociais da Administração Pública. Ministério das Finanças.
- Stratton, J., Stefaniw, L., Grimsrud, K., Werker, D.H., Ellis, A., Ashton, E. (2001). Outbreak of *Salmonella paratyphi* B var java due to contaminated alfalfa sprouts in Alberta, British Columbia and Saskatchewan. *Can Commun Dis Rep* 27: 133–137; discussion 137–138.
- Taormina, P.J., Beuchat, L.R., and Slutsker, L. (1999). Infections associated with eating seed sprouts: an international concern. *Emerg Infect Dis* 5: 626–634.
- Tirpanalan, Ö., Zunabovic, M., Domig, K. J., Kneifel, W. (2011). Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances. Formatex Editions. Chapter Mini review: Antimicrobial strategies in the production of fresh-cut lettuce products, 176-188.
- Todd E.C.D., Michaels B.S., Holah J., Smith D., Grieg J.D., Bartleson C.A. (2010). Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 10.

- Alcohol-based antiseptics for hand disinfection and a comparison of their effectiveness with soaps. *Journal of Food Protection*. 2010 Nov; 73 (11):2128-40.
- Van, B.C.A., Keene, W.E., Strang, R.A., Werker, D.H., King, A.S., Mahon, B. (1999). Multinational outbreak of *Salmonella enterica* serotype Newport infections due to contaminated alfalfa sprouts. *JAMA* 281: 158–162
- Van D.Y.T., Widdowson, M.A., de Jager, C.M., Fernandes, T., Neppelenbroek, S., van den Brandhof, W., et al. (2002). *Salmonella enterica* serotype Enteritidis phage type 4b outbreak associated with bean sprouts. *Emerg Infect Dis* 8: 440–443.
- Veiros, M.B., Proença, R.P.C., Santos, M.C.T., Kent-Smith, L., Rocha, A. (2009). Food safety practices in a Portuguese canteen, *Food Control*. Volume 20, Issue 10, Pages 936–941.
- Viegas, S. (2009). Alterações do Estado de Saúde Associadas à Alimentação. Contaminação Microbiológica dos Alimentos. Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge. Ministério da Saúde.
- Viswanathan, P., Kaur, R. (2001). Prevalence and growth of pathogens on salad vegetables, fruits and sprouts. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 203 (3):205-213.
- Vojdani, J.D., Beuchat, L.R., and Tauxe, R.V. (2008). Juice-associated outbreaks of human illness in the United States, 1995 through 2005. *J Food Prot* 71: 356–364.
- Wanda, C.F., Sousa, J.C.F, Lima, N. (2010). *Microbiologia*. Lidel.
- Walker, C., Faiola, N., Davis, S., Maffatore, I., Batt, C. (1997). Bacteria Retention and cleanability of plastic and wood cutting boards with commercial food service maintenance practices. *Journal of food protection*, 60 (4), 407-413.
- Wendel, A.M., Johnson, D.H., Sharapov, U., Grant, J., Archer, J.R., Monson, T., et al. (2009). Multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with consumption of packaged spinach, August–September 2006: the wisconsin investigation. *Clin Infect Dis* 48: 1079– 1086.
- Werner, S., Boman, K., Einemo, I., Erntell, M., de Jong, B., Lindqvist, A., et al. (2007). Outbreak of *Salmonella* Stanley in Sweden associated with alfalfa sprouts, July–August 2007. *Euro Surveill* 12: pii=3291.
- WHO (2002). Global Strategy on Diet, Physical Activity and Health. Disponível em: <http://www.who.int/dietphysicalactivity/publications/releases/pr84/en/>. Acedido a 10 Maio de 2015.

- WHO (2010). World Health Day 2015: From farm to plate, make food safe. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2015/food-safety/en/>. Acedido a 22 Maio de 2015.
- WHO (2014). Food Safety. Fact sheet N°399 November 2014. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/en/>. Acedido a 22 Maio de 2015.
- Widdowson, M.A., Glass, R., Monroe, S., Beard, R.S., Bateman, J.W. (2005). Probable transmission of norovirus on an airplane. JAMA; 293:1859-60.
- Winthrop, K.L., Palumbo, M.S., Farrar, J.A., Mohle-Boetani, J.C., Abbott, S., Beatty, M.E., et al. (2003). Alfalfa sprouts and Salmonella Kottbus infection: a multistate outbreak following inadequate seed disinfection with heat and chlorine. J Food Prot 66: 13–17.
- Wu, F. M., Doyle, M. P., Beuchat, L. R., Wells, J. G., Mintz, E. D., Swaminathan, B. (2000). Fate of Shigella sonnei on parsley and methods of disinfection. Journal of Food Protection, 63, 568-572.
- Yarrow, L., Reming, V. M.; Higgins, M.M. (2009). Food safety educational intervention positively influences college students' food safety attitudes, beliefs, knowledge, and self-reported practices. Journal of Environmental Health. Disponível em: <http://krex.k-state.edu/dspace/bitstream/2097/6237/1/HigginsJEH2009.pdf>. Acedido a 4 junho 2015.

Anexo 1

Lista de Verificação

Escola Superior de Hotelaria e Turismo do Estoril

Mestrado em Segurança e Qualidade Alimentar na Restauração

Fornecedor:

Ref. Nº:

A	Armário de Refrigeração:	C	NC	NA	Observações
1	Exclusivo para legumes?				
2	Misto?				
3	Armazenagem g.a.?				
4	Temperatura? _____ °C.				
5	Estado de higienização?				
6	Estado de conservação?				
B	Lavagem de Mãos (L.M.):	C	NC	NA	Observações
1	Lavatório exclusivo para LM?				
2	Localização? _____ passos.				
3	Acionamento não manual?				
4	Em funcionamento?				
5	Dotado de água Q&F?				
6	Doseador com detergente?				
7	Doseador com desinfetante?				
8	Dispositivos de secagem?				
	Papel? Secador? Outro? Qual? _____.				
9	Sinalética de identificação L.M.?				
10	Sinalética de procedimento L.M.?				
11	Necessidade de lavagem de mãos?				
C	Bancadas e cubas Zona Legumes:	C	NC	NA	Observações
1	Zona específica para legumes?				
2	Cuba específica?				Qual? _____.
D	Facas:	C	NC	NA	Observações
1	Diferenciadas?				
	Códigos de cor? Outro? Qual? _____.				
2	Estado de conservação?				
3	Estado de higienização?				
4	Local de armazenamento?				
	Esterelizador? Gaveta? Outro? Qual? _____.				
5	Higienização? Conservação?				
6	Utilização?				
E	Tábuas de Corte:	C	NC	NA	Observações
1	Diferenciadas?				
2	Códigos de cor? Outro? Qual? _____.				
3	Estado de conservação?				
4	Estado de higienização?				
5	Procedimento de higienização?				Qual? _____.
6	Registos?				
7	Utilização?				
8	Secagem?				
9	Local de armazenamento?				

F	Lavagem e Desinfecção de Legumes (L.D.L.):					C	NC	NA	Observações
Início: ____ h ____ min.									
1	Existência de procedimento L.D.L.?								
2	Afixado no local correto?								
3	Triagem?								
4	Corte do talo?								
5	Pré-Lavagem?								
6	Corte em pedaços?								
	Antes Desinf.?			Depois Desinf.?		----			
	Ripada à mão?		Faca?		Outro?	Qual? _____.			
	Tábua?		Bancada?		Outro?	Qual? _____.			
7	Doseamento da água para a desinfecção?								
8	Doseamento do produto para a desinfecção?								
9	Tempo de contacto?								
10	Controlo da operação?								
11	Imersão alface por completo?								
12	Misturam outros vegetais?								
13	Lavagem das mãos depois da desinfecção?								
14	Utilização de luvas?								
15	Enxaguamento?								
16	Escorrimento?								
Fim: ____ h ____ min.									
17	Executante (s) do Procedimento?					----			
	1		2		3 ou +3	----			
18	Executante (s) têm formação no procedimento?								
19	Existe registo (L.D.L.) corretamente preenchido?								

G	Manipulador:					C	NC	NA	Observações
1	Fardamento correto?								
2	Inexistência de adornos?								
3	Cabelo?								
4	Unhas?								
H	Recipiente Alface:					C	NC	NA	Observações
1	Recipiente pós-desinfecção?								
2	Tipo de recipiente?								
	Inox?		Vidro?		Outro?	Qual? _____.			
3	Estado de conservação?								
4	Estado de higienização?								
5	Dotado de grelha para escorrer excedente água?								
6	Dotado de tampa?								
	Inox?		Película aderente?		Outro?	Qual? _____.			
I	Armazenagem e Exposição da Alface:					C	NC	NA	Observações
1	Armazenagem correta?								
2	Exposição correta?								
	Exp. Saladas?		Exp. Sobr.?		Outro?	Qual? _____.			
3	Temperatura?								
4	Estado de conservação?								

5	Estado de higienização?						
6	Temperatura?						
J	Alface:			C	NC	NA	Observações
1	Designação do fornecedor?			----			
2	Data de entrega das alfaces?			----			
3	Data da recolha da amostra?			----			
4	Data da embalagem?			----			
5	Tipo de alface?			----			
6	Origem da alface?			----			
K	HACCP:			C	NC	NA	Observações
1	Recolha da amostra testemunha para alfaces?						
2	Controlo microbiológico da alface?						
3	Existência de plano HACCP?						
4	Existência PCC definidos para as saladas?						
	Temperaturas?			Higienização?			
5	Registos para a exposição de frio?						
6	Ações correctivas?						
L	Formação:			C	NC	NA	Observações
1	Registo da formação no refeitório?						
2	Data de formação?						